BEITRAG

zur

Kenntnis des Stoffwechsels des Micrococcus pyogenes aureus.

HABILITATIONSSCHRIFT

zur

Erlangung der Venia legendi

der

medizinischen Fakultät der Universität Rostock

vorgelegt von

Dr. med. **Maximilian Riemer,**
Stabsarzt im Füsilier-Regiment Nr. 90.

München.
Druck von R. Oldenbourg.
1909.

Diss.
Rostock
1909.

38373

BEITRAG

zur

Kenntnis des Stoffwechsels des Micrococcus pyogenes aureus.

HABILITATIONSSCHRIFT

zur

Erlangung der Venia legendi

der

medizinischen Fakultät der Universität Rostock

ACAD. LUGD. BAT. BIBL.

vorgelegt von

Dr. med. **Maximilian Riemer,**
Stabsarzt im Füsilier-Regiment Nr. 90.

München.
Druck von R. Oldenbourg.
1909.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551526_0143

Einleitung.

Bisher hat man beim Studium der für die menschliche und tierische Medizin in Betracht kommenden Mikroorganismen das Hauptinteresse der Erforschung ihrer pathogenen Eigenschaften zugewandt. Als die jetzt allgemein geltende Tatsache, dafs die ansteckenden Krankheiten durch kleinste Lebewesen hervorgerufen werden, durch den Nachweis der einzelnen Krankheitserreger begründet wurde, da lag wohl kein anderer Gedanke näher als der, zunächst aus dem Heere der Bakterien alle die Arten herauszufinden, welchen überhaupt krankmachende Eigenschaften für Mensch und Tier zukommen. Gleichzeitig war mit dieser Forschungsrichtung auch die Möglichkeit einer Gruppierung der einzelligen Organismen gegeben. Es wurde als Mafsstab für die Einteilung ihre Schädlichkeit oder Unschädlichkeit angenommen. Man konnte so leicht unter Zugrundelegung dieses Gesichtspunktes die grofse Masse der Bakterien in pathogene und nicht pathogene Arten, in Parasiten und Saprophyten trennen. Es läfst sich nicht leugnen, dafs dieses Vorgehen äufserst praktisch war, um überhaupt erst einmal einen Überblick über die Be-

deutung der Mikroorganismen für die menschliche und tierische Pathologie zu gewinnen. Die Kenntnis der einzelnen Krankheitserreger konnte dann erst die Grundlagen für weitere wissenschaftliche Forschungen abgeben.

Es ist ohne weiteres klar, dafs die skizzierte Forschungsrichtung in der Bakteriologie notwendigerweise auch von bestimmendem Einflusse auf die im Laufe der Zeit sich entwickelnde bakteriologische Technik werden mufste. Wenn man daraufhin die gebräuchlichen Untersuchungsmethoden betrachtet, so findet man, dafs sie in der Hauptsache in der Richtung ausgebildet sind, die Krankheitserreger in den Körpergeweben und Ausscheidungen nachzuweisen, sie zu isolieren und durch Prüfung auf den erprobten Nährmedien ihre besonderen Wachstumseigentümlichkeiten festzustellen, um sie untereinander und von anderen unschädlichen Arten unterscheiden zu können. Die Erforschung ihrer Lebensbedingungen und sonstigen biologischen Eigenschaften war lediglich Mittel zum Zweck, nämlich sie als Krankheitserreger möglichst genau zu charakterisieren. Auf diese Weise gelangte man zwar zur Kenntnis einer Reihe von pathogenen und nicht pathogenen Bakterienarten, die sich mit den Hilfsmitteln der bakteriologischen Technik leidlich gut voneinander unterscheiden liefsen; es fehlte jedoch die Kenntnis der inneren Lebensbeziehungen, um diese Teile zu einem systematisch aufgebauten Ganzen zusammenfassen zu können.

Wenn auch zugegeben werden mufs, dafs die Möglichkeit, einzelne Krankheitserreger auf künstlichen Nährböden in Reinkultur zu züchten, einen gewaltigen Fortschritt bedeutet, ja sogar die Grundlagen für alle weiteren Forschungen darstellt, wenn ferner auch die an den Laboratoriumstieren gemachten Versuche wertvolle Aufschlüsse über die pathogenen Eigenschaften der Mikroorganismen und die Reaktion des tierischen Körpers auf die Infektion zu geben vermögen, so sind doch unsere Kenntnisse von den innern Lebensvorgängen der einzelnen Organismen beim Wachstum und bei der Entfaltung von pathogenen Eigenschaften gelegentlich ihres Eindringens in den tierischen Körper nur äufserst geringe geblieben. Mit Hilfe der Züchtungsmethoden

und des Tierversuches sind in bezug auf diese Vorgänge wesentliche Fortschritte kaum zu erwarten. Aber auch auf dem speziell ihr zugehörigen Gebiete beginnt die bakteriologische Technik bereits zu versagen, nämlich bei der Unterscheidung pathogener Bakterienarten von verwandten und nicht pathogenen.

Je gröfser die Zahl der Mikroorganismen wird, die in den Kreis der Forschung hineingezogen werden, um so stärker treten die verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen pathogenen und nicht pathogenen Arten hervor. Man ist in vielen Fällen genötigt, zu geringen Wachstumsunterschieden seine Zuflucht zu nehmen, um überhaupt eine Verschiedenheit herauszufinden. Sehr deutlich tritt zum Beispiel diese Schwierigkeit zutage, wenn es sich darum handelt, einen isolierten Bazillus als Typhusbazillus zu identifizieren. Seiner Bedeutung als gefürchteter Krankheitserreger verdankt gerade der Typhusbazillus eine sehr gründliche Erforschung seiner Wachstumseigentümlichkeiten und Wirkungsweise. Mit der peinlichsten Genauigkeit hat man sein Verhalten zu den einzelnen Nährmedien festgelegt und die Forderung aufgestellt, dafs nur der Mikroorganismus als Typhusbazillus angesehen werden darf, der ein diesem Schema entsprechendes Wachstum zeigt. Dasselbe Verhalten zu den Nährmedien besitzt jedoch ein nicht pathogener Verwandter des Typhusbazillus, der Bacillus faecalis alkaligenes. Nur in dem einen Punkte weicht er von ihm ab, dafs er in Lackmusmolke keine Säure produziert. Wenn man dazu berücksichtigt, dafs unsere künstlichen Nährböden sehr selten stets die gleiche Zusammensetzung in bezug auf Quantität und Qualität der Nährstoffe besitzen, und dafs nach unseren Erfahrungen eine dadurch bedingte Variation der Lebensbedingungen auch eine Veränderung der Lebensäufserungen der Mikroorganismen zur Folge hat, so mufs man zugestehen, dafs mit dieser Methode nur ein sehr erfahrener Beobachter zu sicheren Ergebnissen gelangen kann. Als letzte Zuflucht bleibt schliefslich nur noch die spezifische Serumreaktion übrig, und auch diese hat durch die Erfahrungen der letzten Zeit (Mitagglutination und Gruppenagglutination) nicht unerheblich von ihrer ausschlaggebenden Bedeutung eingebüfst.

Ganz ähnliche Verhältnisse bietet die Trennung der einzelnen Ruhrbazillentypen voneinander dar. Auch bei ihnen dient ein einziges Wachstumsmerkmal, das Verhalten auf Lackmus — Mannitagar zur Unterscheidung; ausschlaggebend ist im wesentlichen auch nur die Serumreaktion. Weitere Beispiele sind die Schwierigkeiten bei der Unterscheidung von Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen.

Ein anderes der Variation der Mikroorganismen bei veränderten Lebensbedingungen sehr ähnliches Phänomen ist die erst in neuester Zeit beobachtete sogenannte Mutation der Bakterienstämme. Man versteht darunter eine scheinbar ohne erkennbaren Grund auftretende sprunghafte Variation der Mikroorganismen, die sich in dem Auftreten neuer Eigenschaften kenntlich macht. Es kann die Mutation sogar die Entstehung neuer Rassen und Typen herbeiführen. Der Umstand, dafs ein Bakterienstamm ohne nachweisbare Ursache andere Wachstumseigentümlichkeiten und andere pathogene Eigenschaften zeigt, ist vollends dazu angetan, die Schwierigkeit der Abgrenzung der Arten durch die gegenwärtig gebräuchlichen bakteriologischen Methoden noch mehr zu erhöhen, zumal wir nach den bisherigen Erfahrungen die Mutation weder willkürlich beherrschen noch durch äufserliche Mittel hervorrufen können.

Alle diese Erfahrungen weisen mit Notwendigkeit darauf hin, dafs die gebräuchlichen bakteriologischen Untersuchungsmethoden einer Erweiterung bedürfen, wenn wir dem Verständnis der Wachstumsvorgänge bei den Bakterien und ihrer Wirkungsweise näher kommen wollen.

Es fragt sich nun, nach welcher Richtung hin ein solcher Ausbau der bakteriologischen Technik vorgenommen werden müfste. Um dieses entscheiden zu können, ist es notwendig, die Punkte näher zu erläutern, auf welche sich die Erweiterung unserer Kenntnisse zu erstrecken hat.

Das in der Bakteriologie übliche Züchtungsverfahren auf den verschiedenen Nährmedien bezweckt in der Hauptsache nur die Feststellung der Form und Intensität des Wachstums der Bakterien, um daraus Anhaltspunkte für die Verschiedenheit der

einzelnen Arten zu gewinnen, daneben wird noch die Säure- und Alkalibildung als weiteres Unterscheidungsmerkmal herangezogen. Die Veränderungen jedoch, welche der Nährboden durch das Bakterienwachstum erleidet, ferner, welche Stoffe die Organismen zum Aufbau und zur Erhaltung des Stoffwechselgleichgewichtes verwenden, und in welcher Menge sie verbraucht werden, kann bei dieser Beobachtungsmethode wenig oder gar nicht berücksichtigt werden. Doch ist gerade die Kenntnis dieser Vorgänge allein imstande, uns ein wirkliches Bild von den sich bei dem Leben der Mikroorganismen abspielenden Umsetzungen und damit vielleicht auch einen Einblick in ihre pathogene Wirkung zu geben.

Es ist demnach in erster Linie notwendig, in systematischer Weise der Erforschung des Stoffwechsels der einzelligen Organismen näher zu treten, d. h. die zu ihrem Aufbau nötigen Nährstoffe der Qualität und Quantität nach kennen zu lernen und die entstehenden Stoffwechselprodukte zu bestimmen. Derartige Untersuchungen lassen sich aber nur durchführen, wenn die Arbeitsmethoden der Chemie in ausgiebigerem Maſse, als es bisher geschehen ist, herangezogen werden. Obwohl durch die Anwendung der Chemie die bakteriologischen Untersuchungsmethoden wesentlich kompliziert werden, so läſst sich jedoch diese Erschwerung im Interesse der Erweiterung unserer Kenntnisse nicht umgehen.

Wenn somit durch die Erschlieſsung eines weiteren Arbeitsfeldes die Aussichten auf ein tieferes Eindringen in das Verständnis des Bakterienlebens bedeutend wachsen, so darf dabei doch nicht übersehen werden, daſs die bei solchen Stoffwechseluntersuchungen zu überwindenden Schwierigkeiten allein in technischer Beziehung ganz erheblich sind. Während die höher organisierten Lebewesen schon infolge ihrer Gröſse und der damit im Zusammenhang stehenden Möglichkeit einer genaueren Bestimmung des Nahrungsbedarfes, des Ansatzes und Umsatzes von Nahrungsstoffen, gute Versuchsobjekte darstellen, so fällt dieser Vorteil bei den Bakterien völlig weg. Wegen der Kleinheit der Mikroorganismen ist es unmöglich, das einzelne Individuum zum Versuche zu verwenden, man ist vielmehr ge-

nötigt, Millionen davon als eine Einheit zusammenzufassen, wenn man überhaupt zu einem Resultat gelangen will. Während bei den höheren Lebewesen die Ernährung nach feststehenden Nahrungsstoffgruppen bestimmt werden kann, ist sie bei den Mikroorganismen insofern wesentlich komplizierter, als wir bis jetzt mit Sicherheit kaum bestimmen können, welche Substanzen ihrem Nahrungsbedarfe überhaupt dienen. Es kommen für sie nicht allein Eiweifs, Fette, Kohlenhydrate hierbei in Betracht, sondern auch die verschiedensten Spaltungsprodukte dieser Verbindungen, ja sogar eine Reihe von anorganischen Stoffen kann als Nahrungsquelle ausreichend sein. Es gehören sicherlich sehr umfangreiche Untersuchungen dazu, um zunächst einmal diese Frage für die einzelnen Bakterienarten zu klären. Aufserdem darf nicht aufser acht gelassen werden, dafs es sich bei allen diesen Untersuchungen nicht allein um den qualitativen Nachweis bestimmter Stoffe, sondern hauptsächlich um quantitative Messungen handelt. Ferner kommt hinzu, dafs die Arbeitsmethoden noch nicht so ausgebildet sind, dafs sie in jedem Falle verwendet werden können. Man ist vielmehr darauf angewiesen, je nach Art der Untersuchung stets besondere Methoden durch Ausprobieren zu gewinnen.

Unter Berücksichtigung der genannten Schwierigkeiten, dürfte es schwer sein, schon jetzt ein sicheres Urteil über die Erfolge derartiger Untersuchungen abzugeben, zumal solche bisher nur in geringem Umfange nach den eben skizzierten Gesichtspunkten angestellt sind und infolgedessen auch keine bemerkenswerten Ergebnisse zutage fördern konnten. Soviel läfst sich jedoch mit Sicherheit schon jetzt erkennen, dafs, wenn es überhaupt mit den uns zu Gebote stehenden Hilfsmitteln gelingt, in die Stoffwechselvorgänge beim Leben der Mikroorganismen tiefer einzudringen, viele langwierige und recht mühsame Untersuchungen nötig sein werden.

Es mufs als ein grofses Verdienst von Rubner anerkannt werden, dafs er als erster die Gesichtspunkte klargestellt hat, die bei derartigen, den Stoffwechsel der Bakterien betreffenden Untersuchungen in erster Linie zu berücksichtigen sind. In

seiner Abhandlung[1]) »Über den Energieverbrauch im Leben der Mikroorganismen« hebt er hervor, dafs eine Erforschung der allgemeinen Lebensprozesse der einzelligen Organismen, namentlich der Ernährungsverhältnisse, die Grundlage für alle weiteren Studien dieser Art abzugeben hat. In der Ernährung wurzeln alle Lebensäufserungen, auch die pathogenen Fähigkeiten der Bakterien. Zu dem Verständnis des Ernährungsvorganges verlangt Rubner weiter eine Beobachtungs- und Untersuchungsweise, welche zwischen dem Stoffansatze, dem Wachstum und dem Stoffumsatze, der den labilen Gleichgewichtszustand, das Leben, erhält, unterscheidet. Als dritte grundlegende Bedingung für derartige Untersuchungen wird die Berücksichtigung der die Umsatzleistungen bewirkenden Bakterienmenge gefordert. Es bedarf wohl keiner näheren Erläuterung, dafs diese von Rubner aufgestellten Forderungen bei allen derartigen Arbeiten Beachtung finden müssen, wenn sie Anspruch auf eine Verwendung erheben wollen.

Bei einer Durchmusterung der Literatur findet man eine ganze Reihe von Arbeiten über den Stoffwechsel der Bakterien. Es würde jedoch den Rahmen dieser Veröffentlichung weit überschreiten, wenn über die Methoden und Ergebnisse dieser Versuche berichtet werden sollte, zumal die meisten von ganz anderen Gesichtspunkten, als die hier in Frage kommenden sind, angestellt wurden. Von einem grofsen Teil der Autoren ist beispielsweise der Hauptwert auf die quantitative Feststellung von Stoffwechselprodukten überhaupt gelegt worden, in der Absicht, unter ihnen die Produkte herauszufinden, von welchen die charakteristischen Wirkungen der einzelnen Bakterienarten ausgehen sollen. Im Beginn der bakteriologischen Ära wurden zum Teil nicht einmal Reinkulturen, sondern Bakteriengemische zu derartigen Untersuchungen benutzt. Man kann nach den vorstehenden Auseinandersetzungen den auf diese Weise gefundenen Ergebnissen für die Lösung des zu Anfang skizzierten Problems eine Bedeutung nicht beimessen.

---

1) Archiv f. Hyg. Bd. 48, S. 260.

In den nachstehend berichteten Versuchen habe ich den Stoffwechsel eines bekannten Krankheitserregers des Staphylococcus aureus, zum Gegenstande der Untersuchung gemacht. Es lag nicht in meiner Absicht, alle die Stoffwechselprodukte, welche dieser Mikroorganismus in unseren künstlichen Nährböden bildet, qualitativ und quantitativ zu bestimmen, vielmehr kam es mir darauf an, durch Feststellung des Ablaufes und der Bildungsgröfse eines gewissermafsen als Indikator dienenden Produktes, der Kohlensäure, unter Berücksichtigung der sie produzierenden Bakterienmengen, einen Einblick in die Vorgänge bei dem Wachstum dieses Mikroorganismus zu erhalten. Aufserdem bin ich noch auf die Ammoniakbildung und die Verwertung der stickstoffhaltigen Substanzen der Nährböden eingegangen, soweit es der Rahmen der Versuchsanordnung gestattete.

Derartige Versuche sind mit dem Staphylococcus aureus bisher noch nicht angestellt worden. Zwar berichtet Hesse[1]) in seiner Arbeit über die gasförmigen Stoffwechselprodukte beim Wachstum der Bakterien auch über die Kohlensäureproduktion des Staphylococcus aureus; es handelt sich dabei aber nur um einen sehr kurzen Versuch, der frühzeitig wegen Verunreinigung der Kultur abgebrochen werden mufste. Aufserdem benutzte er eine andere Versuchsanordnung als die, welche in den nachfolgenden Versuchen zur Anwendung kam. Hesse bestimmte die Kohlensäureproduktion und den gleichzeitig stattfindenden Sauerstoffverbrauch von einigen Bakterienarten, die auf festen Nährböden gezüchtet wurden, quantitativ und glaubte, dafs den gefundenen Werten bzw. dieser Methode für die Unterscheidung ähnlicher Bakterien eine grofse Bedeutung zukäme. Da er aber die wirksame Bakteriensubstanz völlig unberücksichtigt liefs, so kann seinen Schlufsfolgerungen nicht ohne weiteres beigestimmt werden.

Gerade die Beziehungen der Stoffwechselprodukte zu der Gröfse der sie bildenden Bakterienmasse sind vielfach bei derartigen Untersuchungen vernachlässigt worden. Erst seitdem Rubner in der oben erwähnten Abhandlung nachdrücklich auf

1) Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 15, S. 17.

ihre Bedeutung für die Beurteilung des Stoffwechsels hingewiesen hat, ist ihnen die gebührende Beachtung geschenkt worden. Ich will hier jedoch nicht unerwähnt lassen, dafs auch aus dem hiesigen Hygienischen Institute zwei Arbeiten hervorgegangen sind, von Burchard[1]) und Haacke[2]), welche diesen Anforderungen genügen.

Als Nährböden kam für die nachstehenden Versuche die allgemein gebräuchliche Peptonfleischwasserbouillon ohne und mit Traubenzuckerzusatz, ferner die von Uschinsky angegebene eiweifsfreie Nährlösung, ebenfalls ohne und mit Traubenzucker, zur Verwendung. Über die sonst noch gewählten besonderen Zusätze ist bei den einzelnen Versuchen das Nähere gesagt.

Die zur Verwendung gelangende Kultur des Staphylococcus aureus war aus Abzefseiter gezüchtet worden und zeigte folgende Wachstumseigenschaften auf den gebräuchlichen Nährböden.

Agar: üppige Pilzrasenentwicklung mit kräftiger Bildung eines goldgelben Farbstoffes.

Gelatinestich: Verflüssigung zuerst im Stichkanal konisch, dann im Bereiche der ganzen Gelatinemasse zylinderisch, von oben nach unten fortschreitend.

Milch: Koagulation nach 3—4 Tagen bei Brutschranktemperatur.

Bouillon: gleichmäfsige Trübung, Bildung eines geringen kleinflockigen Bodensatzes.

Blutserum: üppiges Wachstum, gelbe Färbung des Pilzrasens.

Lakmusmolke: schnell eintretende Säurebildung, Rötung der Molke.

Kartoffel: gelblicher Pilzrasen im Impfstrich.

Im Folgenden gebe ich eine ausführliche Beschreibung der Versuchsanordnung, einmal weil sie für den Ausfall der Ergeb-

1) Burchard, Beiträge zur Kenntnis des Ablaufes und der Gröfse der durch Micrococcus ureae liquefaciens bewirkten Harnstoffzersetzung. Arch. f. Hyg., Bd. 36, S. 264.

2) Haacke, Beiträge zur Kenntnis der quantitativen Zersetzung des Milchzuckers durch den Bac. acidi lactici. Arch. f. Hyg. Bd. 42, S. 16.

nisse und eventuelle Nachprüfung von Bedeutung ist, sodann weil es darauf ankommt, im Laufe der Zeit eine Reihe anwendbarer Methoden für diese Untersuchungen auszubilden.

Versuchsanordnung.

Zur Aufnahme der Kulturflüssigkeiten dienten Literkolben, die mit dreifach durchbohrtem Gummistopfen verschlossen waren. Die eine Bohrung nahm ein bis auf den Boden des Gefäfses führendes Glasrohr auf, durch das die Ventilationsluft hindurchgetrieben wurde. In der zweiten befand sich eine gleichfalls bis auf den Boden reichende Glasröhre, deren aufserhalb des Kolbens befindliches Ende umgebogen war und durch das Flüssigkeit aus dem Kolben während des Versuches entnommen werden konnte. Die dritte enthielt eine kürzere, dicht unter dem Gummistopfen endigende Glasröhre, durch welche die im Kolben befindliche Luft den Absorptionsröhren zugeführt wurde. Durch letztere Öffnung geschah auch die Infektion des Kolbens bei dem Ansetzen eines Versuches.

Um die eintretende Luft von Kohlensäure und Ammoniak zu befreien, wurden folgende Vorschaltungen gewählt:

1. ein Absorptionsturm gefüllt mit Bimssteinstückchen, die mit Natronlauge getränkt waren,
2. ein mit schwefelsäuregetränkten Bimssteinstückchen angefüllter Absorptionsturm oder statt dessen eine Flasche mit verdünnter Schwefelsäure,
3. eine Waschflasche mit Barytwasser.

Die aus dem Kolben heraustretende Luft wurde zuerst über konzentrierte, reine, in einem U förmig gebogenen Glasrohre befindliche Schwefelsäure geleitet, um etwaiges in Gasform entweichendes Ammoniak zu binden, und dann durch eine mit Barytwasser gefüllte Pettenkofersche Barytröhre geführt, in der die Kohlensäure absorbiert wurde. Um bei negativem Druck die durch die Kohlensäure der rückwärts eintretenden Luft möglicherweise bedingte Fehlerquelle auszuschalten, wurde an die Pettenkofersche Röhre noch eine Waschflasche mit Barytwasser angeschlossen.

Da einzelne Versuche Wochen, ja Monate hindurch gehen sollten, so mufste ihre Anordnung derart getroffen werden, dafs eine Verunreinigung der Kulturen nach Möglichkeit ausgeschlossen war. Es erscheint daher wohl nicht überflüssig, wenn ich kurz die Methode beschreibe, welche sich mir nach meinen Erfahrungen bei der Anstellung der Versuche- und bei der Entnahme von Kulturflüssigkeit während der Versuche als die beste bewährt hat.

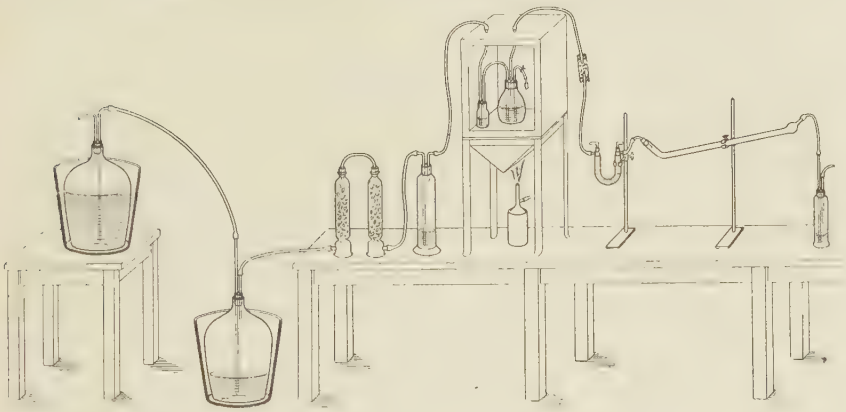

Fig. 1.

Der in der oben angegebenen Weise mit Nährflüssigkeit, Gummistopfen und Glasröhren versehene Literkolben wurde im Dampftopf zusammen mit den die Verbindungen herstellenden Gummischläuchen sterilisiert, nachdem vorher noch der Stopfen durch Bindfaden sicher befestigt war. Nach der Sterilisierung erfolgte die Abdichtung zwischen Kolbenöffnung und Stopfen durch Siegellack und die Infektion mit dem Bakterienmaterial. Um die Verunreinigung des Kolbens durch Keime der Ventilationsluft zu verhüten, wurde diese vor dem Eintritt in denselben noch durch eine Waschflasche mit sterilem Wasser geleitet, die zusammen mit dem Kolben im Brutschrank aufgestellt war. Diese erfüllte gleichzeitig auch den Zweck, die in den Kolben getriebene Luft zu erwärmen und ihr den zur Verhütung einer zu grofsen Verdunstung nötigen Feuchtigkeitsgehalt zu geben. Nachdem der Kolben in dieser Weise im Brutschrank montiert war, wurden die Verbindungen durch Gummischläuche

mit den anfangs erwähnten Vorschaltungen und Absorptionsröhren hergestellt. Zweckmäfsig ist es noch, wenn man nicht eine zweite Waschflasche mit sterilem Wasser zwischen Kolben und Absorptionsröhre einschalten will, ein steriles Wattefilter einzufügen. Eine rückläufige Infektion des Kolbens durch das in den Gummischläuchen kondensierte Wasser ist sonst leicht möglich.

Die Ventilation des Systemes versuchte ich zunächst durch die unter Wasserdruck stehende Luft eines Gasometers. Da jedoch infolge der zahlreichen Flüssigkeitssperren ein verhältnismäfsig hoher Druck zum Durchtreiben der Luft erforderlich war, so reichte der des Gasometers oft nicht aus. Aufserdem bedeutete das häufig notwendig werdende Nachfüllen von Wasser im Laufe von 24 Stunden einen erheblichen Übelstand. Ich nahm daher auf Vorschlag von Herrn Prof. Pfeiffer Glasballons von ungefähr 40 l Inhalt, wie sie zum Versand von Schwefelsäure gebraucht werden. Der hochgestellte mit Wasser gefüllte Ballon wurde durch einen Heber mit dem leeren untenstehenden und an das System angeschlossenen Ballon verbunden. Durch die Vergröfserung oder Verringerung der Höhendifferenz der beiden Ballons liefs sich eine ausgezeichnete Regulierung des Druckes bewerkstelligen. Aufserdem wurde noch durch eine an den von dem untern Ballon zum System führenden Gummischlauch gelegte Klemmschraube die Schnelligkeit der Ventilation geregelt.

Grofse Aufmerksamkeit erforderte weiterhin die zur Entnahme von Kulturflüssigkeit zu Keimzählungen während des Versuches dienende Vorrichtung, weil hierbei sehr leicht eine Verunreinigung des Kolbeninhaltes herbeigeführt werden konnte. Am besten bewährte sich folgende Einrichtung. Das winkelig gebogene Entnahmerohr des Versuchskolbens wurde mit einem kurzen Gummischlauch versehen, der durch einen Quetschhahn abgeklemmt war und am Ende eine kleine, spitz auslaufende, mit einer Gummikappe verschlossene Glasröhre trug; dieser Entnahmeansatz wurde zusammen mit dem Kolben sterilisiert.

Bei Entnahme von Kulturflüssigkeit aus dem Kolben wurde das System hinter dem Kolben abgesperrt, während die Ventilation in Gang blieb; durch den im Kolben entstehenden Über-

druck konnte nach Öffnung des Quetschhahnes des Entnahmerohres eine beliebig grofse Flüssigkeitsmenge herausgepreſst werden. Vor und nach dieser Manipulation mufste jedesmal das Glasrohr in einer Gasflamme sterilisiert werden. Nach Beendigung der Entnahme erfolgte wieder der Abschlufs durch eine sterile Gummikappe. Mittels dieser Methode gelang es, Wochen hindurch täglich Flüssigkeitsproben zu entnehmen, ohne dafs eine Verunreinigung eintrat. Die beigefügte Skizze gibt ein Bild von den beschriebenen Einrichtungen.

Während der Versuche konnte ständig eine Temperatur von 37° C innegehalten werden, da die Kolben in einem auf diese Temperatur eingestellten Brutschranke untergebracht waren. Eine sich täglich gleichbleibende Lüftung war trotz vieler Mühe nicht zu erreichen. Die Menge der täglich durch die Kolben geschickten Luft, ausgedrückt durch die verbrauchte Wassermenge, schwankte zwischen 10 und 30 l und wurde durch Wiegen der Ballons bei Erneuerung der Wasserfüllung festgestellt. Am häufigsten bewegten sich die Lüftungsgröfsen zwischen 15 und 20 l. Von der Einschaltung einer Gasuhr zur Messung der Ventilation wurde Abstand genommen, weil sie den zu überwindenden Druck zu sehr gesteigert hätte.

Auch die Zeiten zwischen dem Wechseln der Barytröhrenfüllung waren aus äufseren Gründen nicht immer gleich lang. Sehr selten betrug die Versuchsdauer weniger als 20 Stunden, in der Regel schwankte sie zwischen 22 und 24 Stunden.

Bei der täglichen Entnahme von Kulturflüssigkeit zu Keimzählungen war zu berücksichtigen, dafs eine gewisse Zahl von Kubikzentimetern erst aus dem Entnahmerohr herausgelassen werden mufste, um den Kolbeninhalt selbst verarbeiten zu können. Es wurden daher nach kräftigem Umschütteln und gründlichem Durchmischen der Kulturflüssigkeit je nach der Weite des Glasrohres 10—15 ccm herausgelassen und erst die darauf folgende Flüssigkeitsmenge zu Keimzählungen verwendet. Dieses Verfahren bedingte notwendig eine ständige Abnahme der Nährbodenmenge und damit auch eine begrenzte Versuchsdauer. Die Keimzählungen selbst wurden in der Weise vorgenommen, dafs von der Kulturflüssig-

keit Verdünnungen in steriler physiologischer Kochsalzlösung hergestellt wurden. Je nach dem zu erwartenden Keimgehalt wurden Verdünnungen von 1 : 100 bis 1 : 10000 gemacht und davon 0,01, 0,02 und 0,05 ccm in Nährgelatine gebracht und zu Gelatineplatten verarbeitet. Versuchsweise kam auch Nähragar zur Anwendung, da dieses ein schnelleres Wachstum und schnellere Zählung ermöglichte. Doch zeigten die Agarplatten häufig den Übelstand, dafs die einzelnen Kolonien nicht genügend isoliert lagen und so eine genaue Zählung vereitelt wurde. Es wurden daher lediglich nur die von den Gelatineplatten gewonnenen Resultate verwendet.

An die Keimzählung von Kulturen des Staphylococcus aureus bin ich zunächst mit grofsem Bedenken herangetreten, von der Erwägung ausgehend, dafs es infolge seiner Wachstumseigentümlichkeit der Haufenbildung sehr schwer sein würde, einzelne Keime zur Aussaat zu bringen. Es schien die Befürchtung gerechtfertigt, dafs die zur Entwicklung gelangenden Kolonien aus Kokkenhaufen entstanden waren. Fertigt man jedoch von einer kräftig durchgeschüttelten Bouillonkultur des Staphylococcus aureus einen hängenden Tropfen an, so kann man sich davon überzeugen, dafs die Hauptmasse der Kokken sich in gut verteiltem Zustande befindet. Alle Häufchen wird man nie beseitigen können; mit dieser Fehlerquelle ist daher stets zu rechnen. Für die Beurteilung der Ergebnisse der fortlaufenden Keimzählungen kommt es meiner Ansicht nach hauptsächlich darauf an, dafs man mit pedantischer Gleichmäfsigkeit die einzelnen Aussaaten herstellt. Nur auf diese Weise lassen sich exakte Vergleichungswerte gewinnen. Betrachtet man aufserdem die auf den Gelatineplatten zur Entwicklung gelangenden Kolonien, so fällt die Gleichmäfsigkeit ihrer Gröfse auf, ein Umstand der auf die Gleichmäfsigkeit der Aussaaten einen Rückschufs gestattet.

In die Pettenkoferschen Röhren wurden 200 ccm Barytwasser gefüllt, dessen Titre vorher festgestellt worden war. Die Rücktitrierung geschah mittels $^1/_4$ n-Salzsäure.

Die beiden ersten Versuche stellten Parallelversuche dar. Eine fortlaufende Zählung der wirksamen fortzüchtungsfähigen

Keime wurde nicht vorgenommen, da die dadurch entstehenden bedeutenden Verluste des Nährbodens vermieden werden sollten, um zunächst einen Überblick über den Ablauf und die Gröfse der Kohlensäureproduktion zu gewinnen. Die in bestimmten Zeiträumen entnommenen Flüssigkeitsmengen dienten zur Feststellung der Reinheit der Kulturflüssigkeit. Gleichzeitig wurde auch eine Keimzählung damit verbunden.

In Spalte 1 ist die gemessene Menge der Kohlensäure in mg verzeichnet, in Spalte 2 ist diese Zahl auf die nach der Versuchszeit sich ergebende Höhe der Produktion in 24 Stunden reduziert, und Spalte 3 enthält die Reduktion auf eine gleichmäfsige Durchlüftung, die der von 10 l Wasser verdrängten Luft entspricht. In Spalte 4 sind die auf 1 ccm berechneten Keimzahlen und in Spalte 5 die entnommenen Flüssigkeitsmengen angegeben.

Die zu den beiden Versuchen verwendete Nährbouillon hatte die gleiche Zusammensetzung. Temperatur des Brutschrankes und die Stärke der Barytlösung stimmten ebenfalls überein, sodafs die Resultate eine Vergleichung ohne besondere Berücksichtigung von Fehlerquellen erlauben.

Die Menge der bei Versuch I eingesäten Keime wurde nicht bestimmt. Schätzungsweise läfst sich jedoch annehmen, dafs sie etwas niedriger als bei Versuch II gewesen sein mufs.

Versuch I.

700 ccm Fleischwasserpeptonbouillon von schwach alkalischer Reaktion.

Versuchstage	1. Menge der gebildeten Kohlensäure in mg	2. Kohlensäuremenge in 24 Std. nach der stündlich. Produktion berechnet in mg	3. Kohlensäuremenge wie nebenstehend auf 10 l Lüftung berechnet in mg	4. Keimzahl in 1 ccm	5. Entnommene Flüssigkeitsmenge in ccm
1	46,2	36,84	16,28		
2	63,8	65,824	23,144		
3	125,4	158,4	61,16		
4	140,8	144,726	44,0		
5	123,2	126,896	49,72		
6	103,4	106,48	36,96		
7	55,0	58,96	19,6	2 108 000 000	17,5
8	68,2	68,2	23,76		

Fortsetzung von Versuch I.

Versuchstage	1. Menge der gebildeten Kohlensäure in mg	2. Kohlensäuremenge in 24 Std. nach der stündlich. Produktion berechnet in mg	3. Kohlensäuremenge wie nebenstehend auf 10 l Lüftung berechnet in mg	4. Keimzahl in 1 ccm	5. Entnommene Flüssigkeitsmenge in ccm
9	97,43	100,32	36,245		
10	113,3	106,688	39,156		
11	154,08	158,664	108,768		
12	163,15	168,036	119,644		
13	235,66	232,712	108,768		
14	224,23	241,384	82,48	111 000 000	18,5
15	167,68	147,4	67,073		
16	199,4	214,58	92,54		
17	92,9	95,7	148,64		
18	131,42	142,604	107,04		
19	131,42	142,604	107,04		
20	141,62	145,86	127,25		
21	141,62	145,86	127,25		
22	145,02	149,11	141,85	1 354 000 000	16,0
23	169,95	175,07	91,99		
24	131,42	135,34	69,79		
25	77,04	79,35	87,92		
26	129,16	133,51	50,3		
27	133,69	133,67	78,85		
28	92,9	96,93	83,62		
29	97,43	119,896	119,91		
30	142,75	146,82	81,41		
31	101,97	111,18	83,62		
32	127,51	121,82	60,08		
33	120,09	128,656	51,19		
34	154,08	151,23	52,33		
35	47,58	56,23	53,47		
36	104,23	107,36	60,27		
37	92,9	95,71	57,1		
38	88,37	91,032	54,83		
39	81,57	84,02	53,93		
40	67,98	70,004	34,88		
41	90,64	93,35	40,33		
42	49,05	44,32	41,69		
43	47,58	50,82	40,44		
44	108,76	93,14	63,9		
45	24,92	30,81	35,34	95 430 000	20,0
46	31,72	32,516	30,81		
47	40,78	42,01	35,8		

Fortsetzung von Versuch I.

Versuchstage	1. Menge der gebildeten Kohlensäure in mg	2. Kohlensäuremenge in 24 Std. nach der stündlich. Produktion berechnet in mg	3. Kohlensäuremenge wie nebenstehend auf 10 l Lüftung berechnet in mg	4. Keimzahl in 1 ccm	5. Entnommene Flüssigkeitsmenge in ccm
48	67,91	65,69	35,8		
49	63,44	66,17	33,53		
50	45,32	46,12	27,41		
51	45,32	46,67	31,72		
52	36,25	37,312	24,47		
53	33,99	35,004	27,17		
54	31,72	32,73	22,7		
55	24,92	24,9	19,25		
56	31,72	32,6	19,35		
57	29,45	30,23	20,85		21,5
58	36,25	37,07	20,85		
59	22,66	23,25	20,39		
60	38,52	32,94	18,72		
61	9,06	11,96	18,58		
62	36,25	37,3	19,94		
63	27,19	27,92	17,22		
64	20,39	22,33	17,22		
65	12,43	10,33	10,33		
66	15,68	17,95	13,59		
67	31,72	31,72	14,96		
68	12,43	12,15	13,46		
69	16,99	18,4	14,6		
70	16,99	18,4	14,6		
71	22,66	23,57	23,57		
72	12,43	12,15	20,21		
73	12,43	15,0	17,4		
74	12,43	12,15	11,55	1 300 000	22,0

Versuch II.

700 ccm Fleischwasserpeptonbouillon von schwach alkalischer Reaktion.

1	81,4	81,268	33,79	Einsaat 14 425	15,5
2	156,2	101,832	72,16	1 155 250 000	15,5
3	118,8	150,84	144,24		
4	202,4	208,91	90,2		
5	180,4	185,81	98,56		
6	147,4	151,8	101,64		
7	145,2	155,01	87,4	13 301 000 000	15,5

Fortsetzung von Versuch II.

Versuchstage	1. Menge der gebildeten Kohlensäure in mg	2. Kohlensäuremenge in 24 Std. nach der stündlich. Produktion berechnet in mg	3. Kohlensäuremenge wie nebenstehend auf 10 l Lüftung berechnet in mg	4. Keimzahl in 1 ccm	5. Entnommene Flüssigkeitsmenge in ccm
8	136,4	136,4	58,52		
9	151,82	156,328	88,82		
10	117,83	121,36	73,87		
11	151,82	156,32	111,48		
12	147,29	151,71	101,06		
13	135,96	133,8	78,85		
14	181,28	186,3	90,64	217 000 000	19,0
15	172,21	151,4	92,9		
16	151,82	173,17	93,34		
17	151,82	156,32	100,51		
18	138,22	149,76	110,11		
19	138,22	149,76	110,11		
20	155,22	159,85	93,36		
21	155,22	159,85	93,36		
22	138,22	190,3	75,29	810 500 000	16,5
23	129,16	130,68	62,54		
24	106,5	109,71	56,65		
25	70,24	72,29	58,91		
26	147,29	151,712	104,23		
27	111,03	112,8	54,38		
28	106,5	111,1	53,93		
29	77,04	95,8	100,61		
30	101,97	105,02	55,74		
31	86,1	93,94	58,01		
32	95,1	93,5	50,75		
33	113,3	118,6	59,82		
34	101,97	100,11	54,30		
35	49,05	50,89	48,94		
36	88,37	91,03	53,93		
37	127,51	130,68	53,47		
38	90,64	93,35	51,21		
39	113,3	116,68	46,22		
40	99,7	102,69	45,32		
41	104,36	112,02	46,22		
42	49,05	44,32	41,69		
43	77,04	82,32	51,21		
44	56,65	48,53	21,3		
45	90,64	112,11	58,01	18 866 000	20,0
46	40,78	41,83	33,08		
47	49,8	51,34	43,5		

Fortsetzung von Versuch II.

Versuchstage	1. Menge der gebildeten Kohlensäure in mg	2. Kohlensäuremenge in 24 Std. nach der stündlich. Produktion berechnet in mg	3. Kohlensäuremenge wie nebenstehend auf 10 l Lüftung berechnet in mg	4. Keimzahl in 1 ccm	5. Entnommene Flüssigkeitsmenge in ccm
48	58,9	58,91	43,5		
49	111,03	111,1	57,93		
50	49,05	46,12	43,05		
51	54,3	50,3	56,01		
52	72,5	51,65	51,84		
53	70,24	49,85	50,66		
54	54,3	48,84	49,2		
55	47,5	40,3	47,58		
56	49,8	43,95	51,3		
57	36,25	37,3	40,97		
58	86,1	87,92	43,51		21,0
59	58,9	59,82	40,33		
60	52,11	44,59	22,18		
61	36,25	47,86	43,51		
62	56,65	57,56	30,36		
63	40,78	41,33	20,39		
64	52,11	53,93	23,57		
65	13,59	11,96	11,24		
66	15,86	17,4	14,5		
67	36,25	36,25	13,78		
68	13,59	14,55	17,09		
69	23,79	25,77	27,6		
70	23,79	25,77	27,6		
71	33,99	35,44	17,72		
72	9,06	9,3	17,49		
73	11,33	15,0	16,27		
74	11,33	12,15	9,34	1 400 000	23,0

Die aufgeführten Zahlen geben in dieser Anordnung kein übersichtliches Bild von dem Ablauf der Kohlensäureproduktion. Ich habe die einzelnen Tageswerte daher in Form von Kurven zusammengestellt (vgl. Figur 1 und 2).

Die in Spalte 1 eingetragenen Zahlen zeigen Differenzen, die zum Teil durch die verschiedene Dauer der Versuchszeit bedingt sind. Wie schon bei der Beschreibung der Versuchsanordnung erwähnt wurde, konnte aus äufseren Gründen nicht

immer die Beobachtungszeit von 25 Stunden innegehalten werden. Ich habe deswegen von der Aufzeichnung dieser Kurve Abstand genommen. Die Werte der Spalte 2 sind dagegen nach der stündlichen Leistung auf die Einheit von 24 Stunden umgerechnet und graphisch dargestellt, ebenso die von Spalte 3 unter Berücksichtigung der Durchlüftungsgröfsen.

Betrachtet man nun den in Form von Kurven dargestellten Ablauf der Kohlensäureproduktion, so findet man ein wesentlich anderes Bild, als man theoretisch erwarten sollte. Wenn man von der Annahme ausgeht, dafs die Oxydation des Kohlenstoffes zu CO_2 einen Indikator für die Arbeitsleistung der Mikrokokken darstellt, wobei unerörtert bleiben mag, wieviel auf den Ansatz, das Wachstum oder die Erhaltung des Stoffwechselgleichgewichtes zu beziehen ist, so sollte man erwarten, dafs die Kurve einen gleichmäfsigen Anstieg, vielleicht ein Verweilen auf einem gewissen Gipfel und einen gleichmäfsigen Abstieg zeigen würde. Das Ergebnis von beiden Versuchen bietet jedoch ein ganz anderes Bild dar. Bei dem Versuche, derartige Kurven zu deuten, ist es jedoch notwendig, zunächst die Gesichtspunkte klarzulegen, von denen aus sie zu beurteilen sind. Folgende Fragen würden zu erörtern sein:

1. Wie gestaltet sich die Kohlensäureproduktion bei den beiden Versuchen im allgemeinen?
2. Lassen sich vielleicht einzelne Perioden unterscheiden, die Rückschlüsse auf eine besondere Form des Ablaufes der Bakterientätigkeit gestatten?
3. Ergeben sich Anhaltspunkte dafür, dafs die Durchlüftungsgröfse eine wesentliche Rolle spielt?
4. Welche Ergebnisse lassen sich aus der Vergleichung der Kurven beider Versuche ziehen?

I. Die Betrachtung der die Werte von Spalte 2 enthaltenden Kurve von Versuch I läfst ganz erhebliche Schwankungen der 24 stündigen Kohlensäureproduktion erkennen. Dieselben erstrecken sich, allerdings mit einem allmählichen Sinken der CO_2 Mengen verbunden, bis zum 50. Versuchstage. Erst von

da ab verlieren sich die Differenzen, bzw. werden klein. Der Höhepunkt der Arbeitsleistung wird am 14. Versuchstage erreicht; von diesem Zeitpunkte ab setzt die langsam sinkende Abnahme der Arbeitsleistung ein.

Die Kurve von Spalte 3 des Versuches I zeigt, dafs infolge der Berücksichtigung der Durchlüftung die täglichen Schwankungen zwar etwas verringert, jedoch nicht ganz ausgeschaltet werden. Der Höhepunkt der Kohlensäureentwicklung fällt statt auf den 14. auf den 17. Versuchstag. Die grofsen Tagesdifferenzen hören bereits am 32. Tage auf, die Kurve verläuft langsam abfallend bis zum Schlusse des Versuches fort, nur am 44. Tage noch von einem verhältnismäfsig kleinen Anstiege unterbrochen. Im allgemeinen kann man sagen, dafs dieser Kurve eine gröfsere Regelmäfsigkeit eigen ist.

Die Kurve von Spalte 2 von Versuch II zeigt keine völlige Übereinstimmung mit der entsprechenden von Versuch I, sondern nur eine gewisse Ähnlichkeit. Die täglichen Schwankungen sind namentlich zu Beginn des Versuches nicht so grofs wie bei I. Auch bei diesem Versuche hören die grofsen Differenzen mit dem 50. Versuchstage auf und werden am Ende des Versuches kleiner. Der Höhepunkt der Kohlensäureproduktion fällt schon auf den 4. Tag. Bis zum 22. Tage halten sich die Werte mit geringeren Tageschwankungen als bei Versuch I auf einer gewissen Höhe. In der Zeit vom 35. bis 50. Tage werden die Differenzen erheblicher und auch die Tagesschwankungen verhältnismäfsig gröfser. Auch der Schlufs des Versuches ist im Gegensatze zu dem bei I in der Zeit vom 57. bis 65. Tage durch eine stärkere Schwankung unterbrochen. Die Kurve von Spalte 3 ergibt eine ähnliche Abschwächung der Differenzen, wie sie bei derjenigen im I. Versuch zutage getreten ist. Die gröfseren Schwankungen im Beginne des Versuches reichen wie bei I bis zum 30. Tage. Von da ab fällt die Kurve allmählich und gleichmäfsig ab, nur am 44. und 45. Tage und am 60. und 61. Tage zeigen sich noch kleine Schwankungen. Letztere fehlt bei Versuch I. Der Höhepunkt der Kohlensäureproduktion rückt von dem 4. auf den 3. Tag.

II. Als bei der Ausführung der Versuche die Tagesschwankungen im Gegensatze zu den theoretischen Erwartungen beobachtet wurden, da lag der Gedanke nahe, dafs diese Differenzen vielleicht in einem Zusammenhange mit der Bakterienentwicklung stehen könnten. Unsere Kenntnisse über den Lebensgang der einzelnen Bakterienzelle sind äufserst mangelhaft. Es ist bis jetzt nichts Sicheres darüber bekannt, ob bei der Züchtung der Mikroorganismen auf unseren künstlichen Nährmedien das Wachstum der Bakterienmasse in Zeitabschnitten verläuft, die je einen Anstieg und Abstieg der Bakterienzahlen erkennen lassen. Wenn tatsächlich derartige Wachstumsperioden vorkommen, dann müfsten sie auch an der CO_2-Produktion nachweisbar sein. Allerdings ist dabei die Voraussetzung zu machen, dafs die CO_2-Bildung in innigster Beziehung zum Wachstum steht. Man würde ferner auch wohl eine gewisse Regelmäfsigkeit in bezug auf Länge der Perioden, Gleichmäfsigkeit des An- und Abstieges innerhalb derselben erwarten können. Versucht man die Einteilung der Kurven von diesem Gesichtspunkte aus. so ergibt sich folgendes:

Versuch I. Kurve von Spalte 2.

I. Periode	1.—7. Tag	=	7 Tage
II. »	8.—17. »	=	mit einer starken Schwankung vom 14.—16. Tage = 10 Tage
III. »	18.—25. »	=	8 Tage
IV. »	26.—35. »	=	mit verschiedenen geringeren Schwankungen = 10 Tage
V. »	36.—45. »	=	ebenfalls Zwischenschwankungen = 10 Tage
VI. »	46.—55. »	=	10 Tage
VII. »	56.—74. »	=	unregelmäfsiger Verlauf.

Wenn sich auch die ersten 6 Perioden durch den tiefen Abfall der CO_2-Bildung kennzeichnen, so fehlt jedoch sowohl eine Gleichmäfsigkeit im Anstieg, wie auch eine solche im Abstieg. Aufserdem lassen sich die einzelnen Schwankungen innerhalb der Perioden schwer deuten.

Ebenso schwierig gestalten sich die Abgrenzungen bei der

Kurve von Spalte 3.

I.	Periode	1.—7. Tag	= 7 Tage	
II.	»	8.—15. »	= 8 »	
III.	»	16.—26. »	= 11 »	
IV.	»	27.—33. »	= 7 »	
V.	»	34.—74. »	= unregelmäfsiger Verlauf.	

Versuch II. Kurve von Spalte 2.

I.	Periode	1.—10. Tag	= 10 Tage	
II.	»	11.—24. »	= 14 »	
III.	»	25.—35. »	= 11 »	
IV.	»	36.—42. »	= 7 »	
V.	»	43.—46. »	= 4 »	
VI.	»	47.—50. »	= 4 »	
VII.	»	51.—57. »	= 7 »	(fehlen eines Anstiegs)
VIII.	»	58.—65. »	= 8 »	
IX.	»	66.—72. »	= 7 »	

Kurve von Spalte 3.

I.	Periode	1.—8. Tag	= 8 Tage	
II.	»	9.—13. »	= 5 »	
III.	»	14.—24. »	= 11 »	
IV.	»	25.—27. »	= 3 »	
V.	»	28.—30. »	= 3 »	
VI.	»	31.—42. »	= 12 »	(Ruhestadium)
VII.	»	43.—44. »	= 2 »	
VIII.	»	45.—46. »	= 2 »	
IX.	»	47.—74. »	Periodenbildung nicht deutlich.	

Die Vergleichung dieser Zahlen ergibt, dafs sich die Tagesmengen der CO_2-Bildung auf Grund dieser beiden Versuche nicht so gruppieren lassen, dafs man von einer Gesetzmäfsigkeit im Ablauf nach Perioden sprechen kann, wenn letztere in dem oben angegebenen Sinne aufgefafst werden. Es ist weder eine Gleichmäfsigkeit innerhalb der einzelnen Versuche noch auch eine Übereinstimmung der Gruppenzahlen der beiden Versuche vorhanden. Am meisten nähert sich noch die Kurve 1 bei Versuch I den Anforderungen.

Wenn es nun auch nicht möglich ist, bei den einzelnen Kurven graphisch übereinstimmende Perioden abzugrenzen, die gewissermafsen die Wachstumsvorgänge der Mikroorganismen

versinnbildlichen, so lassen sich doch die verschiedenen Tagesschwankungen der CO_2-Bildung in einer Form gruppieren, dafs eine regelmäfsig verlaufende Kurve entsteht. Das Aussehen der Kurven und die oben angeführten Gruppenzahlen lassen erkennen, dafs für ihre Darstellung eine Zusammenfassung der Werte von 7 bis 10 Tagen zu je einem Abschnitte notwendig ist. Stellt man z. B. die Werte von je 10 Tagen zu einer Periode zusammen und berechnet daraus die tägliche Durchschnittsproduktion, so ergibt sich eine Gesamtkurve, die ein völlig gleichmäfsiges Bild erkennen läfst.

Die entstehenden Werte sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Die täglichen Durchschnittswerte der zehntägigen Gruppen von Spalte 2 finden sich gleichfalls auf Figur I und II in Gestalt von Kurven aufgezeichnet.

Versuch I.

Spalte 1	täglicher Durchschnitt	Spalte 2	täglicher Durchschnitt	Spalte 3	täglicher Durchschnitt
936,73	93,67	983,324	98,3324	350,025	35,0065
1641,56	164,156	1689,544	168,954	1069,24	106,924
1260,98	126,098	1315,556	131,555	941,89	94,189
986,28	98,628	1017,242	101,724	560,56	56,056
570,12	57,012	564,946	56,494	385,05	38,505
330,8	33,08	332,706	33,270	225,47	22,547
199.13	19,913	208,46	20,846	154,50	15,45
59,95	16,99	62,87	12,571	72,73	18,18

Versuch II.

1437,85	143,785	1509,558	150,955	849,2	84,92
1523,86	152,386	1568,39	156,839	982,36	98,236
1143,17	114,317	1239,262	123,926	715,64	71,564
965,04	96,504	991,47	99,147	522,05	52,20
687,3	68,73	708,6	70,86	439,49	43,949
582,01	58,20	514,52	51,452	453,58	45,358
312,66	31,266	332,38	33,238	229,64	22,964
65,71	16,427	71,89	17,972	60,82	15,205

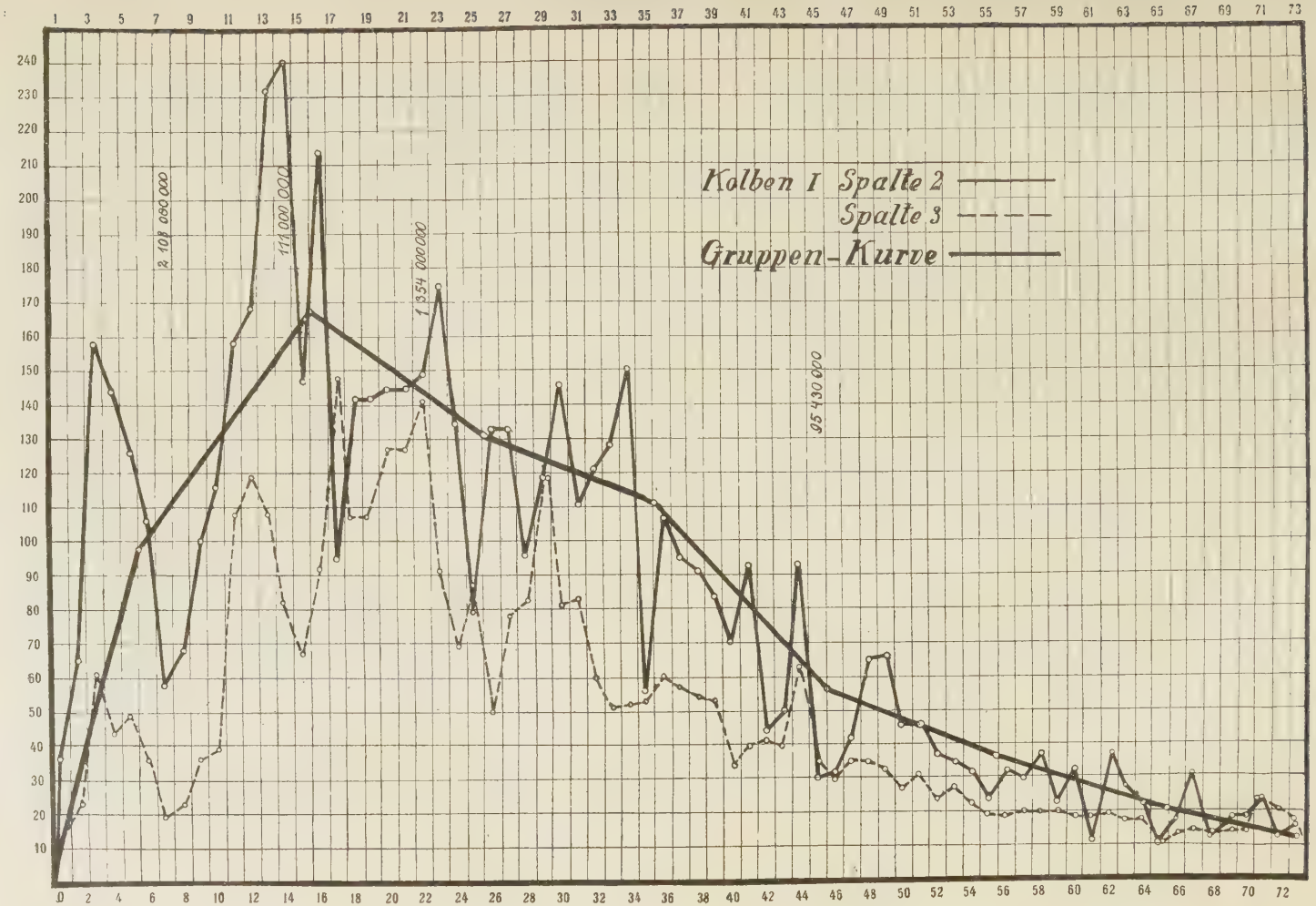
Kolben I Spalte 2
Spalte 3
Gruppen-Kurve
2 108 000 000
111 000 000
1 854 000 000
95 430 000

Fig. 1.

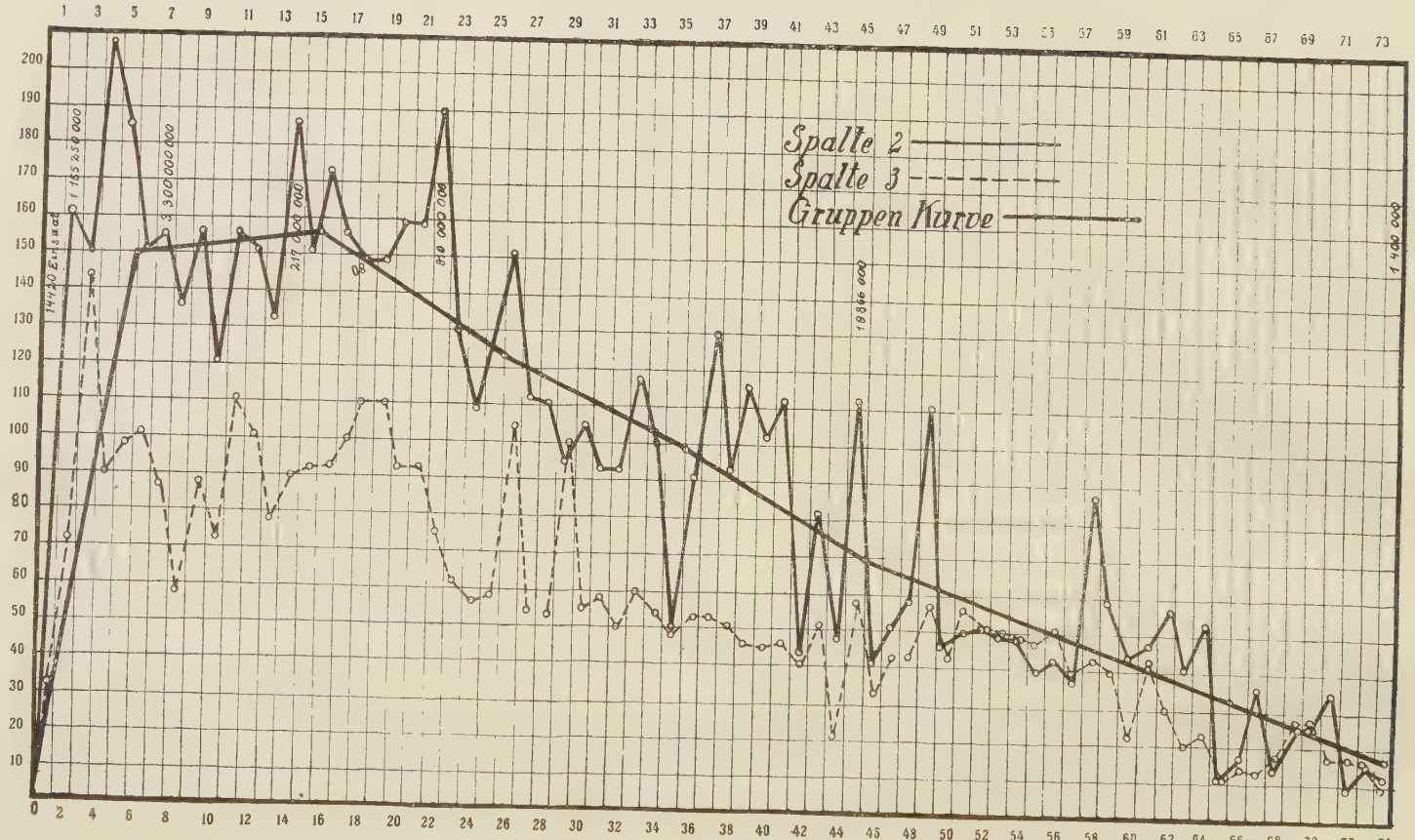
Spalte 2
Spalte 3
Gruppen Kurve
14420 Einheiten
1 145 250 000
3 300 000 000
217 000 000
810 000 000
18946 000
1 400 000

Fig. 2.

Bei Versuch I reicht der aufsteigende Schenkel der Kurve bis zur 2. Gruppe; von der dritten ab beginnt der Abfall in ziemlich gleichmäfsiger Form. Dieses Verhalten findet sich bei den Werten aller drei Spalten. Nur die Spalte 3 macht insofern eine Ausnahme, als in der letzten Gruppe ein kleiner Anstieg bemerkbar wird. Da jedoch in dieser Gruppe nur 4 Tageswerte zusammengefügt werden konnten, so ist dieser Abweichung keine besondere Bedeutung beizumessen.

Ein ähnliches Verhalten läfst die Kurve des II. Versuches erkennen. Der aufsteigende Schenkel umfafst die beiden ersten Gruppen, der absteigende die übrigen sechs. Auch die Werte der Spalte 1 sind diesem Ablaufe entsprechend. Diejenigen von Spalte 3 verhalten sich bis zur 5. Gruppe ebenso, in der 6. Gruppe kommt jedoch wiederum ein geringer Anstieg zum Ausdruck. Die letzte Gruppe enthält nur 4 Werte zusammengefafst und die entsprechenden täglichen Durchschnittszahlen.

Durch eine derartige Zusammenstellung der Werte in Gruppen zu 10 Tagen lassen sich also bei beiden Versuchen Kurven gewinnen, die einen kürzeren aufsteigenden und einen längeren abfallenden Schenkel aufweisen.

III. Es fragt sich nun, ob der Luftmenge, die den Versuchskolben durch die Lüftung zugeführt wurde, eine Bedeutung auf die Gestaltung der Kurven zukommt. Zur Beantwortung dieser Frage wäre es eigentlich notwendig gewesen, überhaupt erst einmal die Kohlensäureproduktion bei fehlender Durchlüftung festzustellen, um die Werte zur Vergleichung heranziehen zu können. Es wäre denkbar, dafs bei reichlicher Zufuhr von Luft bzw. Sauerstoff ein besseres Wachstum der Staphylokokken und eine leichtere Oxydation des Kohlenstoffes zu CO_2 erfolgt als bei geringerer. Was den Einflufs des Sauerstoffes im allgemeinen auf das Wachstum des Staphylokokkus anbetrifft, so ist bekannt, dafs er bei Sauerstoffanwesenheit besser gedeiht als bei anaerober Züchtung. Auch aus den Versuchen von Hesse, der die Kohlensäureproduktion und den Sauerstoffverbrauch in Beziehung zueinander setzte, geht hervor, dafs tatsächlich eine gewisse Menge

Sauerstoff bei der Lebenstätigkeit der aeroben Bakterien verbraucht wurde.

Um die Kohlensäureproduktion ohne Durchlüftung festzustellen, fehlte mir das Instrumentarium; ich mufste deswegen davon Abstand nehmen, abgesehen davon, dafs dadurch die ohnehin schon sehr langwierigen Versuche noch weiter ausgedehnt worden wären. Aber auch schon aus einer Vergleichung der Kurven von Spalte 2 der Versuche mit den gemessenen Durchlüftungsgröfsen, müssen sich Anhaltspunkte für die Bedeutung der gröfseren oder geringeren Sauerstoffzufuhr ergeben.

Bei Versuch I waren die Lüftungsgröfsen in den ersten 10 Tagen (Gruppe 1) 29,1; 28,4; 25,6; 33,0; 27,7; 28,9; 28,2; 28,8; 28,9; 28,9; 29,7 l.

Trotzdem findet sich am 3. Tage ein Anstieg auf 158,4 mg CO_2, ein Abfall am 7. Tage auf 58,96 und ein nochmaliger Anstieg auf 116,684 mg CO_2. Eine weitere Vergleichung der Zahlen ergibt, dafs an einzelnen Tagen zwar Abfall der Kohlensäureproduktion und Abnahme der Lüftungsgröfse zusammenfallen, in den meisten Fällen jedoch ist das Gegenteil oder doch keine zahlenmäfsige Beziehung zwischen beiden Gröfsen vorhanden.

Dieselbe Erscheinung läfst sich durchweg auch bei Versuch II verfolgen. An einzelnen Tagen besteht scheinbar eine deutliche Übereinstimmung in den Anstiegen und Abnahmen, an anderen tritt gerade das Gegenteil hervor. Eine durchgehende Gesetzmäfsigkeit ist nirgends erkennbar. Man ist wohl zu der Annahme berechtigt, dafs die durch die verschiedenen Lüftungsgröfsen bedingten Unterschiede in der Sauerstoffmenge keinen wesentlichen Einfluſs auf die Oxydation des Kohlenstoffes und auf die Lebensäufserungen der Staphylokokken ausüben. Selbst bei der geringsten Lüftungsgröfse ist immer eine für ein üppiges Bakterienwachstum ausreichende Sauerstoffmenge vorhanden, eine Tatsache, die durch die Erfahrungen bei der Kultivierung der Staphylokokken in Kolben, die mit festen Wattestopfen verschlossen sind und infolgedessen nur einen geringen Luftwechsel haben können, bestätigt wird. Die Feststellung des möglichen

Einflusses der Durchlüftung war wegen der Berücksichtigung in den späteren Versuchen von Bedeutung.

IV. Vergleicht man die in den Kurven dargestellten CO_2-mengen von Spalte 2 und die Verteilung derselben in beiden Versuchen, so sollte man erwarten, dafs das Bild, wenn nicht gleich, so doch sehr ähnlich ausfallen würde. Wie anfangs erwähnt worden ist, waren die Versuchsbedingungen derart gewählt, dafs die gröfstmöglichste Gleichmäfsigkeit gewährleistet wurde; gleiche Zusammensetzung des Nährbodens, gleiche Temperaturverhältnisse, gleiche Lösungen zum Nachweis der CO_2-mengen und trotzdem voneinander im einzelnen abweichende Kurven. Betrachtet man die Kurven der beiden Versuche nach dem Aussehen des graphischen Bildes, so zeigt die Kurve des Versuches I bis zum 30. Tage wesentlich stärkere Remissionen als die von Versuch II. Vom 30. bis 50. Tage überwiegen wiederum bei Versuch II die starken Schwankungen der Tageswerte; auch vom 50. Tage ab ist die Ungleichmäfsigkeit bei Versuch II ebenfalls gröfser als bei Versuch I.

Weitere bemerkenswerte Unterschiede zwischen den Versuchskurven bieten die Höhepunkte der Kohlensäureentwicklung. In Versuch I wird der Höhepunkt erst nach einem starken vorhergehenden Abfall am 14. Tage erreicht. In Versuch II ist die Höchstleistung bereits am 4. Tage vorhanden. Diese Kurve hält sich dann allerdings bis zum 22. Tage ohne bedeutendere Schwankungen auf einer gewissen Höhe, im Gegensatze zu Versuch I. Während bei Versuch I vom 50. Tage ab ein durch geringe Schwankungen und gleichmäfsigen Abfall sich kennzeichnendes Endstadium eintritt, zeigt Versuch II namentlich vom 57. bis 65. Tage noch erhebliche Differenzen der Tageswerte. Wollte man nach diesen Versuchskurven ein Bild von der Lebenstätigkeit der Mikroorganismen entwerfen, so müfste man sagen, dafs Versuch I eine langsame Entfaltung der Arbeitsleistung bis zum Höhepunkt und ein schnelleres Abfallen bis zur Erschöpfung der Lebensenergie zeigt. Versuch II liefse dagegen ein schnelles Aufschnellen der Arbeitsleistung, ein geringes Schwanken um eine gewisse Höhe der Leistung und ein allmähliches Absinken bis zur Erschöpfung

erkennen. Es sind dieses Unterschiede, die in vieler Beziehung bemerkenswert sind.

Schaltet man die infolge der Tagesschwankungen gegebenen Differenzen durch Zusammenfassung in zehntägige Gruppen aus, so findet man eine wesentlich bessere Übereinstimmung der Versuchskurven. Zunächst zeigen beide einen gleich langen Anstieg bis zur Höhe der CO_2-Bildung und einen gleichmäfsigen Abfall. Die Kurven sind in der äufseren Form ihres Ablaufes einander ähnlich. Vergleicht man aber die zwischen den einzelnen Gruppen bestehenden Differenzen, so fällt auch jetzt wieder auf, dafs Versuch I eine steilere Kurve als Versuch II besitzt, entsprechend dem oben skizzierten Bilde.

Nachstehende Übersicht enthält die beweisenden Zahlenwerte. Es sind die Gruppendifferenzen von den durchschnittlichen Tageswerten angeführt.

Gruppen	Versuch I		Versuch II	
	Spalte 1	Spalte 2	Spalte 1	Spalte 2
	mg	mg	mg	mg
I. II.	+ 70,486	+ 69,7216	+ 8,601	+ 5,884
II. III.	— 37,176	— 36,492	— 38,969	— 32,913
III. IV.	— 28,354	— 29,831	— 17,813	— 24,779
IV. V.	— 41,616	— 45,23	— 27,774	— 28,287
V. VI.	— 23,922	— 23,22	— 10,53	— 19,408
VI. VII.	— 13,167	— 15,424	— 26,54	— 18,214
VII. VIII.	— 2,925	— 8,275	— 5,233	— 15,266

+ bedeutet Anstieg.
— bedeutet Abfall.

Einen weiteren Belag für die Verschiedenheit der Versuchskurven erhält man noch, wenn beispielsweise nur je sieben Tage zu einer Gruppe zusammengefafst werden. Während bei Ver-

such I auch bei dieser Behandlung eine regelmäfsig verlaufende Kurve mit gleichmäfsigem Anstieg und Abfall entsteht, zeigen die Zahlen von Versuch II im aufsteigenden Schenkel je eine (II. Gruppe) und im abfallenden Schenkel (2. Spalte) zwei Schwankungen (VI. und IX. Gruppe), wie sich aus nachstehender Zusammenstellung ersehen läfst. Es sind in der Tabelle die durchschnittlichen Tageswerte der siebentägigen Gruppen aufgeführt.

Gruppen	Versuch I		Versuch II	
	Spalte 1	Spalte 2	Spalte 1	Spalte 2
I.	93,97	99,78	147,4	156,498
II.	150,86	155,157	146,05	148,889
III.	143,72	147,812	151,818	157,16
IV.	125,59	128,99	115,56	125,513
V.	113,06	119,404	89,218	93,979
VI.	82,05	83,685	96,132	98,683
VII.	55,01	54,45	69,262	72,306
VIII.	35,60	36,76	56,812	47,287
IX.	28,48	28,667	52,434	53,781
X.	18,09	18,75	25,568	26,52
XI.	16,99	12,554	16,427	17,972

Aus diesen Erörterungen ergibt sich die Tatsache, dafs zwei unter den gleichen Bedingungen mit derselben Bakterienart angestellte Versuche doch einen wesentlichen Unterschied in dem Ablauf der täglichen Bildung eines Stoffwechselproduktes, in diesem Falle der Kohlensäure, zeigen können. Es fragt sich nun, ob sich ausreichende Gründe für diese beachtenswerte Erscheinung finden lassen. Zunächst ist festzustellen, wie auch schon anfangs erwähnt wurde, dafs die Bakterienaussaat bei Versuch I etwas kleiner als die bei Versuch II gewesen ist. Es wäre demnach denkbar, dafs im I. Versuch eine längere Zeit erforderlich war, bis die Maximalzahl der Bakterien erreicht wurde und infolgedessen auch erst später der Höhepunkt der Kohlensäureentwicklung eintreten konnte. Damit würde der langsame Anstieg der Kohlensäureproduktion in Versuch I verständlich werden. Immerhin fällt dabei auf, dafs bei den beiden Versuchen die Erreichung des Gipfels der CO_2-Bildung um zehn

Tage differiert, ein verhältnismäfsig recht langer Zeitraum, in Anbetracht dessen, dafs die Einsaaten nicht sehr grofse Verschiedenheit in bezug auf die Bakterienmengen aufweisen konnten. Selbst wenn man auch einen Teil der Tagesunterschiede auf die Abhängigkeit der Kohlensäureabgabe aus der Kulturflüssigkeit von kleinen Schwankungen der Brutschranktemperatur, die wohl kaum ganz ausgeschaltet werden können, und von solchen des Luftdruckes zurückzuführen hat, so müssen doch diese Einflüsse sich ganz gleichartig bei beiden Versuchen geltend gemacht haben. Die nicht zu leugnenden Abweichungen der beiden Versuche voneinander in bezug auf die Gröfse und die Verschiedenheit des Ablaufes der CO_2-Bildung finden dadurch keine genügende Erklärung. Man ist demnach gezwungen, noch andere Möglichkeiten zu erörtern, die eventuell zum Verständnis dieser Erscheinung beitragen können.

Bisher ist vielfach noch die Anschauung verbreitet, dafs die Individuen einer Bakterienart ganz genau übereinstimmende Gröfsen in bezug auf ihre Lebenstätigkeit darstellen. Es wird unbewufst die Voraussetzung gemacht, dafs z. B. 1000 Bakterien einer Art, denselben Versuchsbedingungen unterworfen, stets auch dieselbe Arbeitsleistung aufweisen müssen. Auf dieser Anschauung beruhen die Schlüsse, welche in diagnostischer Beziehung aus der Wachstumsintensität, der Säure- oder Alkalibildung in der Bakteriologie gezogen werden. Wenn man aber die Erfahrungen berücksichtigt, welche sich aus den besser bestimmbaren und darum auch gründlicher erforschten Leistungen der höher organisierten Lebewesen ergeben, so folgt, dafs obige Voraussetzung für die Bakterien erst noch bewiesen werden mufs. Sind die Mikroorganismen denselben biologischen Grundsätzen unterworfen wie die höheren Lebewesen, so mufs auch wie bei diesen eine gewisse Verschiedenheit der Individuen in bezug auf Stoffwechselleistungen selbst bei gleichen äufseren Lebensbedingungen und Ernährungsverhältnissen vorausgesetzt werden. Es würde demnach nicht nötig sein, dafs je 1000 Bakterien einer Art, auch wenn sie demselben Pilzrasen entstammten, immer dieselben Arbeitsleistungen vollbrächten. Je nach der Beschaffenheit

der einzelnen Individuen müfsten gröfsere oder kleinere Differenzen zutage treten. Berücksichtigt man diese Möglichkeit bei der Beurteilung der beiden Versuchsergebnisse, so werden die Unterschiede schon etwas verständlicher. Es wären danach bei Versuch I weniger leistungsfähige Keime tätig gewesen als bei Versuch II; im ersteren steigen die CO_2-Werte langsamer an und fallen auch verhältnismäfsig schneller ab, während in letzterem schneller Anstieg, längeres Verweilen auf einer gewissen Höhe der Leistung und langsames Absinken zu beobachten ist.

Es ist ohne weiteres klar, dafs, wenn mit der Inkonstanz der Stoffwechselgröfse der einzelnen Bakterienindividuen einer Art gerechnet werden mufs, die Schwierigkeiten für die Gewinnung von diagnostisch verwertbaren Arbeitsleistungen bedeutend wachsen. Wenn nun auch zugegeben werden mufs, dafs eine Verschiedenheit der einzelnen Bakterienzellen in bezug auf die Gröfse ihres Stoffwechsels vorhanden sein kann, so liefse sich doch einwenden, dafs ihr zwar eine theoretische, aber nur eine geringe und für die Praxis nicht in Frage kommende Bedeutung zuzusprechen wäre. Die Unterschiede in den Arbeitsleistungen der Masseneinheit einer Bakterienart könnten so klein sein, dafs sie nur minimale Schwankungen um eine mittlere Konstante, die für dieselbe charakteristisch ist, darstellen. Es wäre somit die Möglichkeit nicht von der Hand zu weisen, dafs für die einzelnen Bakterienarten ein bestimmter Typus für den Ablauf des Stoffwechsels aufgestellt werden könnte. Wählt man die Kohlensäureproduktion als Mafsstab für den Stoffwechsel, so müfste sich durch die Messung ihrer Gröfse und ihres Ablaufes ein solcher Typus, in diesem Falle für den Staphylococcus aureus, gewinnen lassen.

Ein Blick auf die Kurven, welche die 24stündigen CO_2-Werte enthalten, lehrt jedoch, dafs sie sich infolge der bedeutenden Verschiedenheit ihres Ablaufes für diesen Zweck nicht eignen. Besser würden dagegen die Gruppenkurven passen, da ihr Verlauf bei beiden Versuchen eine befriedigendere Übereinstimmung zeigt.

Meines Wissens sind aufser von Hesse bis jetzt noch keine Versuche gemacht worden, solche Stoffwechseltypen für die Bakterienarten festzulegen, obgleich dadurch möglicherweise diagnostisch wichtige Anhaltspunkte für die Trennung verwandter Arten gewonnen werden könnten, die infolge der Berücksichtigung des Chemismus der Bakterienzelle wesentlich bessere Unterscheidungsmerkmale als die sonst gebräuchlichen darstellen würden. Es liegt mir natürlich fern, auf Grund dieser beiden Versuche einen CO_2-Typus für den Staphylococcus aureus aufstellen zu wollen, dazu würde eine ganze Reihe von derartigen Versuchen gehören, aus denen als Resultat ein mittlerer Typus konstruiert werden müfste. Soviel kann jedoch schon aus diesen beiden Versuchen entnommen werden, dafs man bei diesen Forschungen mit erheblichen Abweichungen im einzelnen zu rechnen haben wird.

Wie verhält sich weiter die Gesamtmenge der in den beiden Versuchen gebildeten Kohlensäure zueinander?

Im I. Versuch wurden in 74 Tagen 5985,55 mg CO_2 gebildet, im II. Versuch 6717,59 mg CO_2, also mehr 732,04 mg CO_2.

Der tägliche Durchschnitt betrug bei Versuch I 80,885 mg, bei Versuch II 90,778 mg CO_2.

Die gebildete CO_2-Menge entspricht einer Oxydation von Kohlenstoff beim I. Versuche von 1632,42 mg, beim II. Versuche 1832,07 mg.

Aus diesen Zahlen läfst sich zugleich ein Einblick in die durch den Staphylokokkus bewirkte Zersetzung des in der Nährbouillon vorhanden gewesenen Eiweifses gewinnen. Man kann wohl annehmen, dafs der oxydierte Kohlenstoff in der Hauptsache von den in dem Witteschen Pepton enthaltenen Albumosen geliefert worden ist. Rechnet man den mittleren Kohlenstoffgehalt der Albumosen zu rund 55 %, so würden, da 7 g Pepton zur Bereitung des Nährbodens verwendet wurden, in Versuch I 42,389 % und in Versuch II 47,584 % zerstört worden sein. Diese Werte bedürfen jedoch insofern noch einer Korrektur, als in beiden Versuchen durch Entnahme von Flüssigkeitsproben zur Feststellung der Reinheit der Kultur eine Verminderung der Gesamt-

albumosenmenge eingetreten war. Im I. Versuche waren 93,5 ccm, im II. 123,0 ccm entnommen. Da aber ein Teil dieser Albumosen ebenfalls schon bei der Entnahme zersetzt gewesen sein mufs, so ist die Verrechnung des Restes sehr schwierig. Immerhin ergibt die Berücksichtigung dieser Korrektur noch eine Verschiebung zugunsten des Versuches II.

Die Vergleichung der beiden Versuchsergebnisse läfst deutlich erkennen, dafs die Arbeitsleistung der Bakterienmasse in Versuch II am bedeutendsten gewesen ist, es sind rund 5,2% mehr von dem Kohlenstoff oxydiert worden als bei I. Als Ursache für diese Differenz kann man einmal die verschieden grofse Bakterienmasse ansehen. Will man sie jedoch als die alleinige Erklärung gelten lassen, dann taucht sofort eine neue Schwierigkeit auf, nämlich die Frage, warum bei einer verschieden grofsen Aussaat trotz der langen Versuchsdauer von 74 Tagen nicht allmählich doch ein Ausgleich eingetreten ist. Man sollte meinen, dafs in einem Nährboden von gleicher Zusammensetzung und Menge eine kleine Aussaat schliefslich doch, wenn auch etwas später, dieselbe Bakterienentwicklung und die gleiche Arbeitsleistung hervorbringen würde wie eine gröfsere. Wenn dieses nicht geschieht, wie es sich aus diesen beiden Versuchen zu ergeben scheint, zumal die Aussaaten nicht erheblich differieren konnten, so ist man doch wohl genötigt, den Umstand zu berücksichtigen, der bereits bei der Besprechung des Ablaufes der Kohlensäureproduktion erwähnt wurde, dafs mit der Inkonstanz der Arbeitsgröfse der einzelnen Bakterienindividuen derselben Art auch unter sonst gleichen Versuchsbedingungen gerechnet werden mufs.

Nach der Wirkungsweise des Staphylokokkus im tierischen Gewebe (ausgedehnte Einschmelzung desselben) war auch eine starke Zerstörung des Eiweifses der Nährbouillon und das Auftreten eines Endproduktes des Abbaues, des Ammoniaks, zu erwarten. Es war mir nicht möglich, die Ammoniakproduktion in derselben Ausdehnung wie die CO_2-Bildung zu verfolgen, sondern ich habe nur die während der beiden Versuche gebildete Gesamtmenge dieses Stoffwechselproduktes bestimmt. Dasselbe

konnte als freies Ammoniak gebildet werden und mit dem Durchlüftungsstrom entweichen oder aber in Form von verschieden zusammengesetzten NH_3-Verbindungen, wie Methylamin, Trimethylamin und ähnlichen, in der Kulturflüssigkeit verbleiben. Ersteres wurde durch Überleiten des Luftstromes über konzentrierte Schwefelsäure absorbiert und am Schlusse des Versuches durch Destillation mit überschüssiger Natronlauge gewonnen, in einer abgemessenen, aber überschüssigen Menge $^1/_2$ n.-Salzsäure aufgefangen und aus dem Überschufs der Säure durch Titration mit $^1/_4$ n.-Natronlauge bestimmt. Letzteres wurde durch Destillation der verdünnten Kulturflüssigkeit mit Sodalösung erhalten, die eine ammoniakalische Zersetzung des Peptons nicht herbeiführt, wie sie von fixem Alkali in Gestalt von Kali- oder Natronlauge zu erwarten war. Die Ausführung dieser Destillation geschah folgendermafsen:

Von der Kulturflüssigkeit kamen 10—20 ccm in einen 500 ccm fassenden Kolben, in den vorher 200 ccm destilliertes aufgekochtes Wasser und 10 ccm einer 10%igen Sodalösung gegeben waren. Dann wurde langsam destilliert, das Destillat in 10 ccm $^1/_2$ n.-Salzsäure aufgefangen und die übergegangene Ammoniakmenge durch Titration mit $^1/_4$ n.-Natronlauge bestimmt.

Von dem flüchtigem NH_3 waren in der vorgelegten Schwefelsäure am Ende der Versuche absorbiert:

bei I: 102,64 mg = 84,52 mg N
» II: 114,96 » = 94,66 » »

demnach mehr bei II: 12,32 mg NH_3.

Bei der Bestimmung der in der Kulturflüssigkeit zurückgebliebenen NH_3-Verbindungen war daran zu denken, dafs bereits in der unbeschickten Nährlösung, möglicherweise aus dem Pepton und den Fleischextraktstoffen stammend, eine gewisse Menge derartiger Verbindungen vorhanden sein konnte. In der Tat liefsen sich in der sterilen Versuchsbouillon nicht unerhebliche Mengen NH_3 durch Destillation mittels Sodalösung gewinnen. Auch Berghaus[1]) hat dieses Vorkommnis in seiner

1) Über die Ammoniakbildung bei einigen Bakterienarten. Archiv für Hygiene, Bd. 64, S. 1.

Arbeit über die Ammoniakbildung bei einigen Bakterienarten erwähnt; er bediente sich jedoch zur Bestimmung des NH_3 der von Schlösing angegebenen Methode.

Die NH_3-Bestimmung in der unbeschickten Nährbouillon für die beiden Versuche ergab für 100 ccm Nährboden 21,25 mg. In der beschickten Bouillon wurde am Schlusse der Versuche für 100 ccm gefunden:

bei I: 53,125 mg NH_3, bei II: 81,6 mg NH_3
— 21,25 » » — 21,25 » »

31,875 mg = 26,24 mg N 60,35 mg = 49,698 mg N.

Berechnet man danach die dem NH_3 entsprechende Menge des gespaltenen Eiweifses, so ergibt sich folgendes: Die Kulturflüssigkeit von I enthielt 26,24 mg × 7 = 183,68 mg N.

demnach 84,52 mg N
+ 183,68 » »

268,20 mg N

Diese Zahl, in Eiweifs umgerechnet durch Multiplikation mit 6,25, ergibt: 1676,25 mg Eiweifs, die zersetzt worden wären, ohne Berücksichtigung der genannten Verringerung der Nährbodenmenge. Bei Versuch II sind die entsprechenden Zahlen:

94,66 mg N, 49,698 × 7 =
+ 347,83 » »

= 442,49 mg N, mit 6,25 multipliziert = 2765,5625 mg Eiweifs.

Es wären also zersetzt worden bei Versuch I rund 1,6 g Eiweifs, bei Versuch II rund 2,7 g Eiweifs.

Von dem vorhandenen Eiweifs sind mithin in Versuch I 23,946%, in Versuch II 39,508% gespalten worden.

Eine Vergleichung dieser Zahlenwerte ergibt gleichfalls in Übereinstimmung mit der bei der CO_2-Bildung beobachteten Tatsache, dafs die Bakterienmasse des Versuchs II eine gröfsere Arbeitsleistung als die bei Versuch I vollbracht hat.

Die bei diesen Parallelversuchen gefundenen Gröfsen für die Kohlensäureproduktion und die Eiweifszersetzung können

jedoch erst dann in der richtigen Weise gewürdigt werden, wenn sie in Beziehung zu der dabei wirksamen Bakterienmasse gebracht werden. Da diese beiden Versuche nach der ganzen Anordnung hauptsächlich darauf berechnet waren, einen Aufschlufs über den Ablauf des Bakterienlebens, beurteilt nach der Kohlensäureproduktion, zu geben, so mufste auf eine systematische Bestimmung der Anzahl der lebenden, fortzüchtungsfähigen Keime verzichtet werden. Die gelegentlich der Flüssigkeitsentnahme angestellten Keimzählungen will ich jedoch anführen, da die Vergleichung der Bakterienzahlen mit den Kohlensäurewerten der Entnahmetage manches Bemerkenswerte darbietet. Die erste Keimzählung bei Versuch I fand am 7. Versuchstage statt; es wurden in 1 ccm 2108 Millionen festgestellt. Ein Blick auf die Kurve der Tabelle lehrt, dafs an diesem Tage ein erheblicher Abfall der CO_2-Bildung vorhanden war.

Am 14. Tage 2. Zählung 111 Millionen, gleichzeitig aber der Höhepunkt der CO_2-Produktion. Am 21. Tage 3. Zählung 1354 Millionen, ein wesentlicher Abfall des Kohlensäurewertes gegen den 14. Tag. 4. Zählung am 45. Tage 95430000. Bei Beendigung des Versuches am 74. Tage wurden noch 1300000 Keime in 1 ccm gezählt. Es ergibt sich aus diesen Zahlen die auffällige Tatsache, dafs der Höhepunkt der Kohlensäureentwicklung mit einem auffallenden Tiefstande der Bakterienzahl zusammen gefallen ist.

Versuch II.

Nach der Einsaat:	14420	Keime in 1 ccm
2. Tag:	1155250000	» » 1 »
7. »	3300000000	» » 1 »
14. »	217000000	» » 1 »
21. »	810000000	» » 1 »
45. »	18866000	» » 1 »
74. »	1400000	» » 1 »

Bei diesem Versuche treten solche bedeutenden Unterschiede wie bei I nicht zutage. Entsprechend dem Ablaufe der Kurve, sind die Bakterienzahlen wesentlich gleichmäfsiger. Von einem näheren Eingehen auf die Deutung dieser Zahlen will ich an dieser Stelle Abstand nehmen, da bei später angeführten Ver-

suchen die Beziehungen zwischen CO_2-Bildung und Bakterienmenge noch ausführlicher besprochen werden sollen.

Bei der Bestimmung der wirksamen Bakteriensubstanz in diesen beiden Versuchen konnte es sich nur darum handeln, die Masse der am Schlusse in der Kulturflüssigkeit suspendierten Bakterienleiber dem Gewichte nach festzustellen. Die Schwierigkeiten, derartige Bakterienernten aus gröfseren Flüssigkeitsmengen quantitativ zu bestimmen, sind ganz erheblich. Allgemein gebräuchliche Methoden gibt es hierfür überhaupt nicht, wenn man von der durch Rubner ausgearbeiteten Methode der Fällung der Bakterien mit Eisenazetat absieht, die bisher nur von seinen Schülern angewendet worden ist. Da mir die Handhabung dieser Methode nicht geläufig war, habe ich versucht, einen anderen Weg für die Erntebestimmung zu finden.

Bei der Rubnerschen Methode wird der Stickstoffgehalt der Bakterien für die Berechnung der Bakterienmenge herangezogen. Dieser Bestandteil der Bakterienzellen ist verhältnismäfsig grofs und auch gut bestimmbar, wenn gröfsere Bakterienmengen vorhanden sind.

Von der Erwägung ausgehend, dafs der Stickstoffgehalt einer bakterienhaltigen Nährlösung höher sein mufs als derjenige der Lösung nach Entfernung der Bakterienleiber, versuchte ich, durch eine Stickstoffbestimmung der bakterienhaltigen Versuchsbouillon und einer solchen nach Filtration durch ein Chamberlandfilter aus der Stickstoffdifferenz die Bakterienmasse zu berechnen. Bevor ich jedoch die durch diese Methode gefundenen Werte mitteile, ist es notwendig, ihre Anwendung näher zu erläutern. Die Brauchbarkeit hängt ab von der Erfüllung einer Reihe von Vorbedingungen. Zunächst war es denkbar, dafs bei der Filtration der Nährbouillon durch ein Chamberlandfilter nicht allein die Bakterien, sondern auch noch andere stickstoffhaltige Verbindungen zurückgehalten würden. Die Folge wäre eine gröfsere Stickstoffdifferenz, als dem Bakteriengehalte entsprach, gewesen. Die daraufhin mit unbeschickter Bouillon angestellten Vorversuche ergaben jedoch, dafs die Menge der stickstoffhaltigen Substanzen durch die Filtration

keine Veränderung erfährt. Selbst wenn durch diese Prüfung ein Filtrationsverlust an N erwiesen wäre, dann hätte sich immer noch durch eine Eichung des Filters in dieser Richtung eine bei der Berechnung zu berücksichtigende Konstante gewinnen lassen. Ferner ist es erforderlich, dafs die Filter völlig frei von stickstoffhaltigen Substanzen sind, die möglicherweise bei der Filtration in das Filtrat übergehen können. Diese Fehlerquelle läfst sich durch starkes Glühen der Filterkerzen, nachfolgendes Auswaschen mit destilliertem Wasser und Trocknen im Heifsluftsterilisator ausschalten. Weiter empfiehlt es sich, zu den Bestimmungen möglichst grofse Flüssigkeitsmengen zu verwenden, da bei kleinen die durch den N-Gehalt der Bakterienleiber bedingte Differenz kaum über die Grenze der Titrationsfehler hinausgeht. Aus demselben Grunde ist es auch erwünscht, dafs die Bakterienmengen recht grofs sind. Dieses war bei dem üppigen Wachstum des Straphylokokkus und der langen Dauer der Versuche stets der Fall. Unter Berücksichtigung dieser Vorbedingungen liefert diese Methode ganz brauchbare Resultate. Der einzige Nachteil dieses Verfahrens gegenüber dem Rubnerschen besteht wohl darin, dafs die Gesamtmasse nicht auf einmal bestimmt werden kann, sondern durch Umrechnung gefunden werden mufs; es kommen auf diese Weise bei dem Gesamtwerte event. Multiplikationsfehler in Betracht.

Die Stickstoffbestimmung wurde stets nach der Methode von Kjeldahl ausgeführt.

Leider konnte die Bestimmung nach dieser Methode nur bei Versuch II durchgeführt werden, da die Bouillon bei Versuch I bei der Ausprobung anderer Filtrationsmethoden, Filtration durch gehärtete Papierfilter, Asbest- und Kieselgurfilter, verbraucht war.

Die Differenz betrug bei Versuch II 32,15 mg N für 100 ccm Kulturflüssigkeit. Demnach für die Gesamtmenge (700 ccm — 123 ccm, im Laufe des Versuches entnommen, = 577) = 32,15 × 5,77 = 185,505 mg N.

Hierbei ist gleichfalls die schon erwähnte Fehlerquelle durch die Flüssigkeitsentnahme nicht in Betracht gezogen.

Hat man auf diese Weise die auf die Bakteriensubstanz zu beziehende Stickstoffmenge gefunden, so läfst sich daraus die Bakterienmasse berechnen, wenn man den N-Gehalt der Gewichtseinheit der Staphylokokken in trockenem und feuchtem Zustande kennt.

Die Bestimmung des Stickstoffgehaltes eines auf einem festen Nährboden gewachsenen Pilzrasens läfst sich ohne besondere Schwierigkeiten ausführen. Für eine 24 Stunden alte Kultur des Staphylococcus aureus, auf 1 % Wittepeptonhaltigem Agar gewachsen, fand ich als Mittelwert für 1 mg trockene Bakteriensubstanz 0,08274 mg N. Die Bestimmung wurde in der Weise ausgeführt, dafs der Bakterienrasen vorsichtig vom Nährboden abgestreift, im Platintiegel bei 100° C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und die N-Bestimmung nach Kjeldahl angeschlossen wurde.

Es beträgt demnach der Gesamt-N-Gehalt bei dem Staphylococcus aureus 8,274 %. Aus dem so gefundenen Gesamtstickstoff läfst sich durch Multiplikation mit 6,25 die Stickstoffsubstanz berechnen = 51,71 %.

Für die Beurteilung dieser Werte dürfte es von Interesse sein, wenn ich die von Cramer[1]) bei seinen Untersuchungen über die Zusammensetzung der Bakterien in ihrer Abhängigkeit von dem Nährmaterial gefundenen entsprechenden Zahlen von einigen Bakterienarten zur Vergleichung anführe.

Cramer fand auf gewöhnlichem Agar nach 48stündigem Wachstum

1. bei Pfeiffers Kapselbazillen	10,65 % N	= 66,56 %	Stickstoff
2. Bazillus Nr. 28	11,69 % »	= 73,06 %	»
3. Friedländerscher Pneumoniebazillus	11,48 % »	= 71,75 %	»
4. bei dem Rhinosklerombazillus	10,94 % »	= 68,37 %	»

Leider hat er seine Untersuchung nicht auch auf eine Kokkenart ausgedehnt, die entsprechenden Zahlen würden eine bessere Gegenüberstellung zulassen. Es fällt auf, dafs der N-Wert für den Staphylokokkus wesentlich niedriger ist als bei

1) Cramer, Archiv für Hygiene, Bd. 16, S. 151.

den genannten Bazillenarten. Ob es sich hier um eine Zufälligkeit handelt, müssen weitere Untersuchungen ergeben.

Aus dem N-Gehalte der trockenen Bakteriensubstanz kann der der feuchten Bakterienmasse gefunden werden, wenn vor der Trocknung der feuchte Pilzrasen gewogen wird. Demnach würde sich der N-Gehalt von 1 g feuchter Bakterienmasse vom Staphylokokkus aureus (Agarkultur) auf 0,02249 g belaufen. Weiterhin läfst sich durch Keimzählungen fesstellen, wieviel Bakterienindividuen auf ein 1 mg bzw. 1 g entfallen, so dafs mit dem bekannten N-Gehalt rechnerisch auf diesem Umwege auch die lebende, fortpflanzungsfähige Bakterienzahl bestimmbar ist. Durch diese Methode ist es also möglich, auf Grund der N-Bestimmung zur Kenntnis der lebenden, wirksamen Bakterienmasse zu gelangen und die durch die gemessenen Spaltungsprodukte ausgedrückte Arbeitsleistung auf die Menge der lebenden Bakterienzellen zu beziehen.

Nach meinen Versuchen kämen auf 1 mg feuchten Staphylokokkenpilzrasen oder 0,02249 mg N 24std. Agarkultur 1086170211 Individuen. Da die Zahl für die Gesamternte ins Ungeheure gehen würde, so will ich davon absehen, die Ernte des Versuches II, 185,505 mg N, in der Summe der Einzelindividuen auszudrücken. Es genügt, als Mafs für die Arbeitsleistung die Gewichtsmengen der Bakterienmasse anzuführen. 1 mg Staphylokokkenpilzrasen wird durch 0,02249 mg N dargestellt, die Bakterienernte von 185,505 mg N würde demnach eine wirksame Bakterienmasse von 8,248 g anzeigen. Bei diesen Berechnungen mufs jedoch der Umstand in Betracht gezogen werden, dafs sowohl für die N-Bestimmung des Bakterienleibes, wie auch für die der lebenden, fortzüchtbaren Individuen die Ernte von Agarkulturen zugrunde gelegt ist. Nach den Untersuchungen von Cramer steht fest, dafs die Art des Nährbodens von Einflufs auf den N-Gehalt der Bakterienleiber ist. Es dürften mithin die Bakterienernten aus einer Peptonbouillon nicht ohne weiteres denen von Peptonagar gleichgestellt werden. Trotzdem kann man wohl ohne grofse Fehlerquellen annehmen, da der Gehalt der Nährmedien, Bouillon und Agar, 1% Pepton beträgt, dafs

der Stickstoffgehalt der Bakterien in beiden Fällen ziemlich gleich sein wird. Will man danach eine Gleichung für die Arbeitsleistung des Staphylokokkus aufstellen, dann könnte man sagen, dafs bei Versuch II durch 8,248 g Bakterienmassen in 74 Tagen 1,83207 g Kohlenstoff zu Kohlensäure oxydiert und 2,7655625 g Eiweifs gespalten worden seien. Für 1 g Bakterienmasse wären die entsprechenden Werte:

0,22218 g C
0,335 g Eiweifs,

der Durchschnittswert für den Tag würde betragen:

0,003002 g C
0,00452 g Eiweifs.

Die Versuche, die Arbeitsleistungen einer bestimmten Bakterienart durch Berechnungen, wie sie oben angeführt sind, zahlenmäfsig festzulegen, bieten eine gute, ja vielleicht die einzige Handhabe, um einen Überblick über die Gröfse der Umsetzungen bei dem Leben der Bakterien zu erhalten. Wenn aber am Schlusse eines längeren Versuches die Bakterienernte bestimmt wird, so sind zunächst noch einige Erwägungen anzustellen, die für die Deutung der gefundenen Werte von Wichtigkeit sind. Wollte man den gefundenen Wert für die Bakterienmasse 8,248 g als die der Wirklichkeit entsprechende, allein wirksame lebende Substanz betrachten, so müfste man die Annahme machen, dafs alle einmal in der Kulturflüssigkeit zur Entwicklung gelangten Keime entweder am Leben geblieben wären oder sich doch in bezug auf die Zusammensetzung ihrer Leibessubstanz bis zum Schlusse unverändert erhalten hätten. Es fragt sich, ob eine derartige Annahme berechtigt ist oder ob die bisher über diese Vorgänge festgestellten Tatsachen zu einer anderen Auffassung nötigen. Alle Untersuchungen, die sich mit der Lebensdauer der Bakterienarten beschäftigt haben, konnten ihre Beobachtungen stets nur auf grofse Bakterienmengen und niemals auf das einzelne Individuum ausdehnen. Die Ergebnisse, welche durch derartige Forschungen gezeitigt worden sind, können demnach immer nur Werte für eine ganze

Generation darstellen. Unsere Kenntnisse über die Lebensdauer der einzelnen Bakterienzelle, ferner auch über die Teilungshäufigkeit der Mutterzelle sind äufserst gering. Vergegenwärtigt man sich nun die bei einem längeren Versuche in der Kulturflüssigkeit sich abspielenden Vorgänge, so kommt man zu der Auffassung, dafs die Erntebestimmung am Schlusse eines längeren Versuches mit gewissen Einschränkungen zu beurteilen ist. Es ist nach allen unseren Erfahrungen mit der Möglichkeit zu rechnen, dafs im Laufe der Versuchszeit eine Menge von Individuen zugrunde geht; weiter wissen wir, dafs abgestorbene Bakterien bald auch der Auflösung ihrer Leibessubstanz verfallen. Gefärbte Ausstrichpräparate von älteren Bakterienkulturen zeigen die Veränderungen des Bakterienprotoplasmas nach dieser Richtung hin sehr deutlich. Wenn nun tatsächlich bei einem derartigen Versuche gröfsere Mengen von Bakterien abgestorben und der Auflösung anheimgefallen sind, so kann die am Schlusse gewonnene Bakterienernte den wahren Wert der zur Entwicklung gekommenen Bakterienmasse nicht angeben. Eine weitere Folge dieser Erscheinung ist dann die, dafs durch die zerfallenen Bakterien wieder Nährstoffe frei werden, die den vorhandenen Vorrat von neuem ergänzen. Dafs in der Tat einzelne Bakterienarten die Fähigkeit haben, aus den Leibern der zugrunde gegangenen Individuen ihren Bedarf an Nahrungsstoffen zu decken, ist bereits bekannt. Eine weitere Stütze für diese Auffassung liefern Beobachtungen, die in hiesigem Institut von Winter[1]) an Ruhrbazillen gemacht worden sind. Er konnte feststellen, dafs auf älteren Ruhrbazillenkolonien frische Sekundärkolonien auftraten, die nicht im Zusammenhang mit dem Nährboden standen. Aus diesen Überlegungen würden sich folgende nicht aufser acht zu lassende Momente für die Beurteilung einer Bakterienernte, wie sie oben versucht worden ist, ergeben:

1. Der gefundene Wert für die Bakterienmasse kann nicht als Ausdruck für die tatsächliche Gröfse der wirksamen Substanz

[1]) Die Arbeit wird demnächst veröffentlicht werden.

betrachtet werden, weil die aufgelösten Individuen nicht in der Ernte enthalten sind.

2. Die nach der Ernte berechnete Arbeitsleistung wird zu hoch angesetzt, da sie auf eine zu kleine Anzahl von Bakterien bezogen wird.

3. Der Verbrauch an Nahrungsstoffen des Nährmediums wird zu niedrig berechnet, weil ein Teil wiederum durch die aufgelösten Bakterienleiber ergänzt sein kann.

Diese Einschränkungen der Verwertung einer Bakterienernte nach längeren Versuchen stehen oder fallen mit der Erweiterung unserer Kenntnisse über das Leben des einzelnen Bakterienindividums. Bei exakten Forschungen dürfen sie jedoch nach dem gegenwärtigen Stande unseres Wissens nicht unberücksichtigt bleiben.

Wenn in den vorstehenden beiden Versuchen die Bildungsgröfse und der Ablauf eines Stoffwechselproduktes, der Kohlensäure, zum Gegenstande der Untersuchung gemacht wurde, so sollten die folgenden drei dazu dienen, über den Ablauf der Bakterienentwicklung in Beziehung zu der Kohlensäureproduktion Aufklärung zu verschaffen. Es wurden täglich die Kohlensäuremengen und die im Kubikzentimeter enthaltenen Keime festgestellt. Bei allen drei Versuchen kam die gewöhnliche Nährbouillon zur Verwendung.

Bei Versuch IV und V wurden der Kulturflüssigkeit Gips bzw. Marmor zugesetzt. Ersterer Zusatz sollte dazu dienen, den störenden Einfluſs von gröfseren Ammoniakmengen durch Bildung von schwefelsaurem Ammoniak auszuschalten, letzterer, die möglicherweise auftretende Säuerung des Nährbodens zu vermeiden.

Die gefundenen Werte für Versuch III, IV und V sind in folgenden Übersichten enthalten:

Versuch III.

Menge der Nährbouillon 700 ccm.

Reaktion schwach alkalisch. Die Versuchsanordnung entsprach derjenigen von Versuch I und II.

Versuchstage	Gemessene CO_2-Menge in mg	CO_2-Menge nach der stündlichen Lüftung auf die 24stündige Menge berechnet in mg	Keime in 1 ccm Einsaat 10150
1	162,8	162,8	729 600 000
2	158,4	253,44	972 000 000
3	107,76	107,76	1 461 000 000
4	104,5	104,5	1 019 000 000
5	294,8	294,8	—
6	164,92	158,3	—
7	138,56	135,72	20 600 000
8	112,16	109,87	50 800 000
9	88,0	140,78	49 000 000
10	156,0	124,8	154 000 000
11	97,0	113,23	218 400 000
12	123,2	125,8	992 000 000
13	118,8	126,72	856 000 000
14	114,4	118,08	915 000 000
15	123,2	127,15	918 000 000
16	74,8	132,96	1 216 000 000
17	120,8	103,53	544 400 000
18	96,8	130,87	623 600 000
19	105,6	107,83	333 900 000
20	94,4	97,44	674 000 000
21	80,8	141,02	450 000 000
22	112,8	96,67	564 000 000
23	76,8	97,00	373 000 000
24	107,2	137,20	357 000 000
25	63,2	84,24	—

Da sich bei den ersten beiden Versuchen ergeben hatte, dafs der Gröfse der angewandten Lüftung keine ins Gewicht fallende Bedeutung für die CO_2-Bildung beizumessen ist, so habe ich bei diesen drei Versuchen die auf die Lüftung berechneten Werte fortgelassen, zumal auch eine Wirkung der Ventilation auf das Bakterienwachstum bei einer Vergleichung der entsprechenden Zahlen nicht erkennbar war. Wie bei den früheren Versuchen

Versuch IV.

700 ccm Bouillon, von schwach alkalischer Reaktion.

Zusatz von 50 g Gips.

Versuchstage	Gemessene CO_2-Menge in mg	CO_2-Menge nach der stündlichen Leistung auf die 24 stündige Menge berechnet in mg	Keime in 1 ccm Einsaat 9840
1	127,2	127,2	209 000 000
2	187,0	299,04	300 000 000
3	198,0	198,0	115 000 000
4	99,0	90,0	26 800 000
5	176,0	176,0	36 200 000
6	134,75	129,36	—
7	136,4	133,68	366 000 000
8	169,36	165,91	331 000 000
9	83,2	133,1	468 000 000
10	153,6	122,88	106 000 000
11	114,4	140,78	97 200 000
12	144,8	147,8	71 000 000
13	138,4	147,6	281 800 000
14	164,8	169,92	521 900 000
15	154,0	158,88	718 000 000
16	98,46	174,96	1 326 700 000
17	162,4	139,2	911 100 000
18	112,0	150,0	1 215 000 000
19	154,0	157,2	162 600 000
20	85,6	88,32	509 800 000
21	85,6	149,28	258 700 000
22	56,8	48,48	92 200 000
23	88,0	111,12	61 200 000
24	68,0	86,88	65 800 000
25	59,2	78,72	—

sind auch hier die 24 stündigen CO_2-Werte und die täglichen Keimzahlen für 1 ccm graphisch in Figur 3, 4 und 5 dargestellt. Da jedoch die Differenzen bei den Keimzahlen zu grofse Ausschläge gegeben hätten, so ist eine Reduktion der Werte durch Division mit 5 ausgeführt.

Bei der Beurteilung der CO_2-Kurven mufs vorausgeschickt werden, dafs die Tagesmengen nicht auf die gleiche Nährbodenmenge von 700 ccm bezogen werden können, da täglich im Durch-

Versuch V.

700 ccm schwach alkalische Bouillon.

Zusatz von 50 g Marmor..

Versuchstage	Gemessene CO_2-Menge in mg	CO_2-Menge nach der stündlichen Leistung auf die 24stündige Menge berechnet in mg	Keime in 1 ccm Einsaat 9580.
1	66,0	66,0	270 720 000
2	58,08	92,88	827 600 000
3	88,0	88,0	1 114 000 000
4	71,5	71,5	1 467 840 000
5	112,16	112,16	—
6	50,87	48,72	53 140 000
7	50,4	49,44	214 000 000
8	80,8	78,96	376 000 000
9	53,6	85,68	413 000 000
10	83,2	65,76	199 000 000
11	50,4	61,92	255 000 000
12	50,4	51,36	138 200 000
13	44,0	46,8	437 000 000
14	44,0	45,36	186 000 000
15	37,36	40,32	942 000 000
16	26,4	46,8	88 200 000
17	37,43	32,16	85 300 000
18	26,4	35,52	72 200 000
19	26,4	26,88	22 600 000
20	36,8	37,92	45 800 000
21	22,0	38,4	65 600 000

schnitt 15 ccm zu den Keimzählungen entnommen werden mufsten. Es lassen sich daher diese Kurven in bezug auf die Höhe der CO_2-Mengen mit denen der ersten beiden Versuche nicht ohne weiteres vergleichen, trotzdem aber können sie für die Feststellung des Ablaufes der CO_2-Bildung mit verwertet werden. Auch eine Vergleichung der CO_2-Menge mit den in 1 ccm gezählten Keimen ist zulässig, da ja zugleich mit der Nährbodenmenge auch stets die darin suspendierten entsprechenden Bakterienmassen ausgeschaltet wurden.

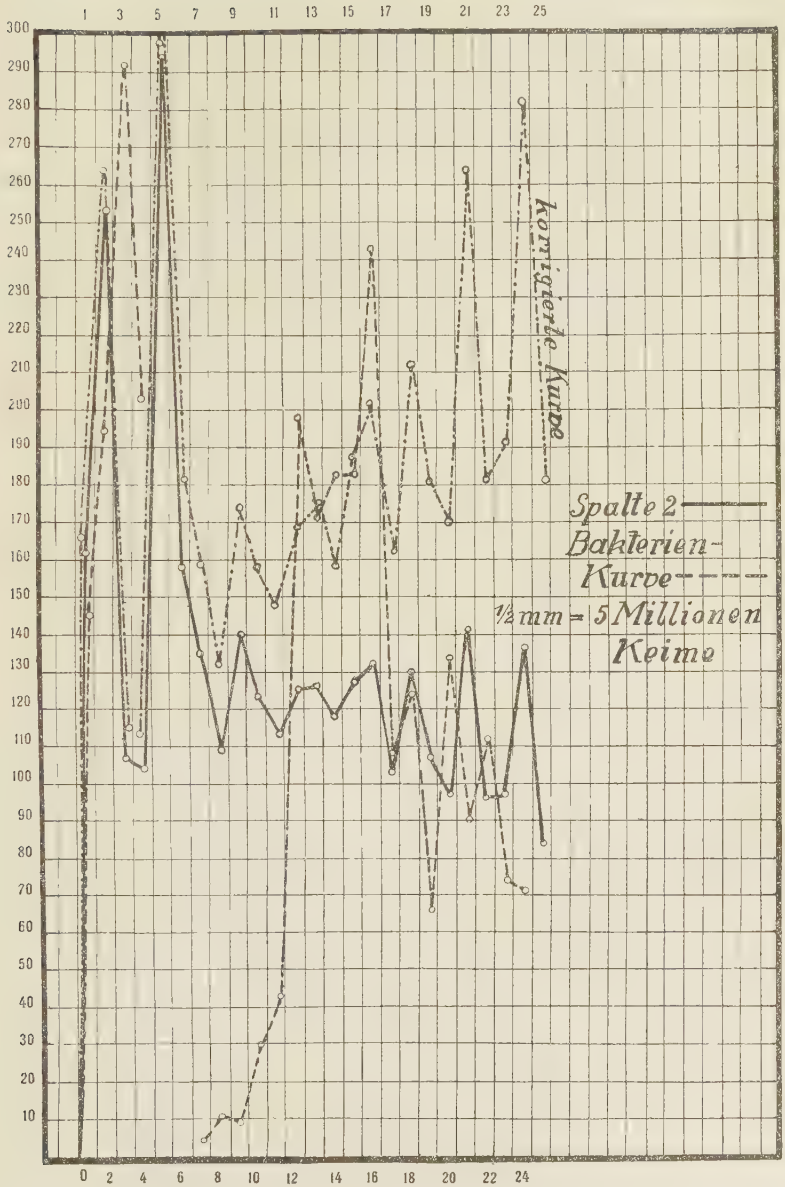
korrigierte Kurve
Spalte 2 ——
Bakterien-
Kurve - - - -
½ mm = 5 Millionen
Keime

Fig. 3.

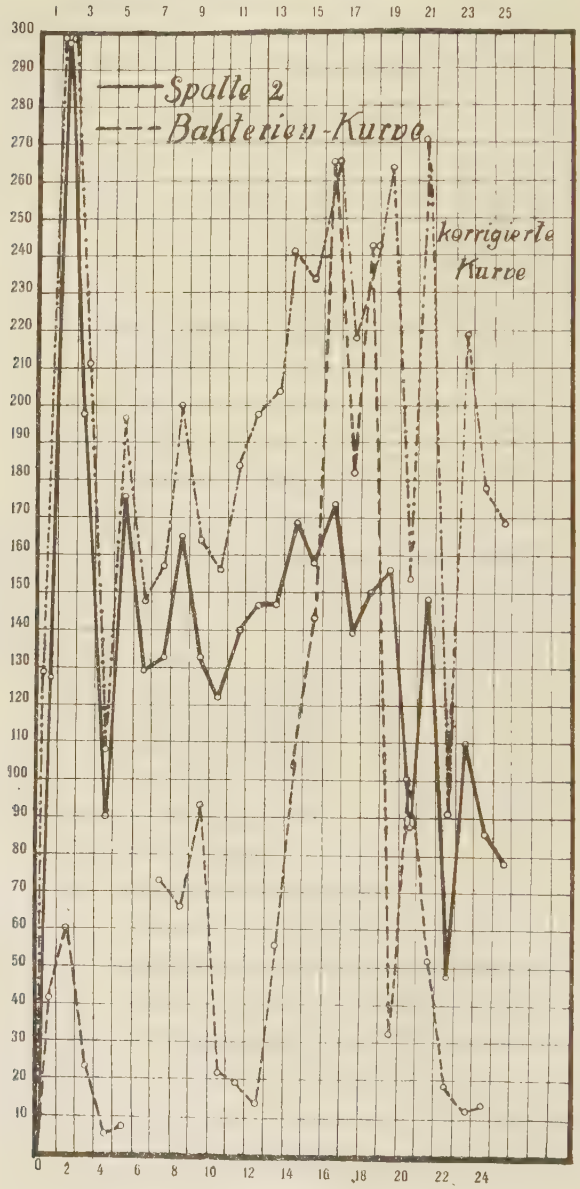

Fig. 4.

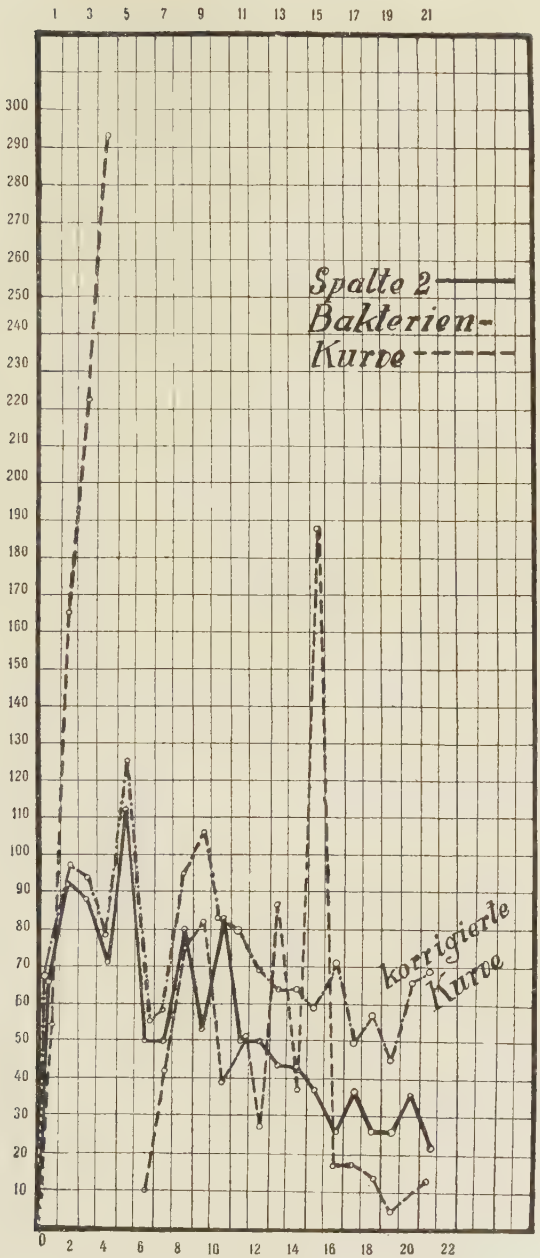
1 3 5 7 9 11 13 15 17 19 21
300 290 280 270 260 250 240 230 220 210 200 190 180 170 160 150 140 130 120 110 100 90 80 70 60 50 40 30 20 10
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22
Spalte 2
Bakterien-
Kurve
korrigierte
Kurve

Fig. 5.

Versuch III.

Die CO_2-Kurve zeigt zu Anfang zunächst einen bedeutenden Anstieg bis zum 2. Tage, darauf am 3. und 4. einen erheblichen Abfall, dem ein erneuter und zugleich der stärkste Anstieg am 5. Tage folgt. Danach setzte ein ziemlich plötzliches Abfallen der Kurve ein, die sich nunmehr mit geringen Schwankungen auf einer gewissen Höhe bis zum 20. Tage hält und vom 21. ab von neuem gröfsere Tagesunterschiede erkennen läfst.

Bei der Kurve des Bakterienwachstums tritt ebenfalls ein gleichmäfsiger Anstieg bis zu dem Höhepunkt am 3. Tage auf, während die CO_2-Kurve an diesem Tage bereits einen bedeutenden Tiefstand aufweist. Am 4. Tage beginnt der Abfall. Die Keimzählungen am 5. und 6. Tage ergaben so auffallend niedrige Werte und ein so verzögertes Wachstum, dafs ich als Ursache einen Fehler im Nährboden annehmen zu müssen glaubte. In der Tat stellte sich bei der Prüfung der Gelatine heraus, dafs die Reaktion neutral bis schwach sauer war. Diese Mangelhaftigkeit des Nährbodens konnte erst einige Tage später entdeckt werden, da zwischen Aussaat und Keimzählung immer 3 Tage lagen. Zu meinem Bedauern findet sich derselbe Übelstand auch bei Versuch IV und V, die gleichzeitig mit Versuch III angesetzt waren. Vom 7. bis 10. Tage hält sich die Kurve auf einem gewissen Tiefstande, und vom 11. beginnt wiederum ein bis zum 16. Tage dauernder Anstieg, dem kein derartiger Anstieg der CO_2-Kurve entspricht. Vom 17. bis 24. Tage ist ein Abfall der Kurve mit Tagesschwankungen zu verzeichnen, die ungefähr gleichlaufend mit den CO_2-Differenzen sind.

Bei näherem Eingehen auf die Einzelschwankungen dieser beiden Kurven findet man jedoch, dafs die Höchstzahl der fortpflanzungsfähigen Keime erst erreicht wird, nachdem die Kohlensäuremenge bereits zurückgegangen ist. Ob dem Gipfel der Kohlensäuremenge am 5. Tage ein neuer Anstieg der Bakterienzahl in Wirklichkeit entspricht, mufs wegen des bereits erwähnten Versuchsfehlers unerörtert bleiben. Auffallend ist das bedeutende Anwachsen der Bakterienmengen vom 11 bis 16 Tage, das merkwürdigerweise keine entsprechende Vermehrung der CO_2-Bildung zur Folge gehabt hat. Bei dem Ablaufe der Kurve zum Schlusse des Versuches ist bemerkenswert, dafs am 20. und 22. Tage die Höhe der Bakterienkurve mit dem Tiefstand der CO_2-Kurve und am 21. Tiefstand der ersteren und Höhe der letzteren zusammenfällt.

Versuch IV.

Die CO_2-Kurve beginnt mit steilem Anstieg bis zum Höhepunkt am 2. Tage; darauf starker Abfall bis zum 4. Tage und ein zweiter kleinerer Anstieg am 5. Tage. Vom 6. bis zum 19. Tage hält sich die Kurve mit

geringen Schwankungen auf einer mittleren Höhe, und vom 20. bis 25. Tage setzen die gröfseren Tagesschwankungen ein.

Die Bakterienkurve weist zunächst ein verhältnismäfsig geringes Ansteigen auf, der Gipfel fällt mit dem der CO_2-Bildung auf den 2. Tag zusammen. Der zweite, etwas gröfsere Anstieg fällt auf den 9. Tag; die stärkste Bakterienentwicklung tritt in der Zeit vom 12. bis 18. Tage auf, ohne dafs auch in diesem Versuche die CO_2-Werte die Schwankungen mitmachen. Der 20. Tag bringt eine nochmalige geringere Steigerung der Bakterienmenge, und von da ab sinkt die Kurve schnell bis zum Schlusse ab.

In den ersten Tagen des Versuches zeigen die beiden Kurven einen gleichmäfsigen Verlauf. Derjenige vom 8. zum 9. und vom 10. zum 12 Tage ist entgegengesetzt insofern, als Höhepunkt und Tiefstand nicht korrespondieren. Die starke Bakterienvermehrung vom 12. bis 18. Tage wird nicht von einer entsprechenden Steigerung der CO_2-Mengen begleitet. Vom 19. zum 20., vom 20. zum 21. und vom 22. zum 23. Tage findet sich wiederum ein entgegengesetzter Verlauf.

Versuch V.

Der Ablauf der CO_2-Kurve weist keine sehr bedeutenden Tagesunterschiede auf. Der erste Gipfel fällt auf den 2. Tag, der 2. und höchste auf den 5. Darauf folgen vom 6. bis 12. Tage geringere Schwankungen in mittlerer Höhe. Vom 13. Tage beginnt das ziemlich gleichmäfsige Absinken bis zum 21. Tage.

Die Bakterienkurve zeigt einen anfänglichen gleichmäfsigen Anstieg mit dem Höhepunkt am 4. Tage. Der zweite niedrigere Gipfel fällt auf den 9. Tag, und vom 12. bis zum 15. Tage tritt von neuem stärkere Bakterienvermehrung hervor. Danach starker Abfall am 16. Tage und Verweilen auf einem Tiefstande bis zum Schlusse. Im einzelnen findet sich wie bei den beiden vorhergehenden Versuchen dasselbe Verhalten der Kohlensäure- und Bakterienkurve zueinander nämlich, dafs die auf und ab steigenden Schenkel der beiden Kurven sich kreuzen, und zwar vom 8. zum 9., 9. zum 10., 10. zum 11., 11 zum 12. Tage. Auch der hohe Anstieg der Bakterienzahl am 15. Tage wird von keiner Erhöhung der CO_2-Bildung begleitet.

Welche Schlüsse lassen sich aus diesen drei Versuchen über den Ablauf der CO_2-Bildung und ihre Beziehung zu der vorhandenen, fortpflanzungsfähigen Bakterienmenge ziehen?

Bei der Erörterung dieser Frage ist zunächst zu berücksichtigen, dafs die Nährböden nicht von der gleichen Zusammensetzung gewesen sind. Bei Versuch III und IV kam zwar Bouillon von derselben Zubereitung zur Verwendung, doch erhielt letztere, wie schon erwähnt, einen Zusatz von Gips. Zum V. Versuch wurde eine frische Bouillon hergestellt und ein Zu-

satz von Marmor gewählt. Zugleich war es möglich, dafs die Reaktion nicht genau mit der von III und IV übereinstimmte. Vergleicht man nun die CO_2-Kurven miteinander, so ergibt sich, dafs trotz dieser verschiedenen Zusammensetzung des Nährbodens, wenn auch keine völlige Übereinstimmung im einzelnen, aber doch eine nicht zu verkennende Ähnlichkeit im Ablauf vorhanden ist.

Die stärkste CO_2-Bildung fällt bei allen drei Versuchen in die ersten 5 Tage, und zwar zeigen alle zwei Gipfelpunkte in dieser Zeit, deren Höhen sich jedoch insofern unterscheiden, als bei III und V das Maximum am 5. Tage, bei IV schon am 2. Tage erreicht wird. Darauf folgt vom 6. bis zum 18. Tage eine durch geringere Tagesschwankungen und Verweilen auf einer mittleren Höhe der Produktion ausgezeichnete Periode. Während dann bei III und IV das Absinken der Kurve mit gröfseren Tagesschwankungen einsetzt, findet sich bei V ein ebenmäfsiger Abfall. Weiterhin fällt bei V auf, dafs die CO_2-Produktion bei weitem nicht die Werte erreicht wie bei III und IV. Welche Einflüsse hierbei mitgespielt haben können, soll später bei Besprechung der Bakterienkurven erörtert werden.

Wenn somit die Vergleichung der drei CO_2-Kurven dieser Versuche eine verhältnismäfsig gute Übereinstimmung ihres Ablaufes untereinander ergibt, so fragt es sich doch, ob die Kurvenbilder denjenigen der beiden ersten Versuche ähnlich sind. Um dieses feststellen zu können, ist es notwendig, die CO_2-Werte auf die anfänglich vorhandene Nährbodenmenge (700 ccm) zu berechnen. Da täglich bei allen Versuchen durchschnittlich 15 ccm zu Keimzählungen entnommen wurden, so läfst sich diese Rechnung gut ausführen und mufs auch ein der Wirklichkeit sich annäherndes Zahlenmaterial ergeben. Allerdings ist dabei mit den durch die vielen Multiplikationen bedingten Fehlern zu rechnen.

In der nachfolgenden Übersicht sind die auf 700 ccm Nährboden berechneten CO_2-Werte der drei Versuche zusammengestellt. Der besseren Vergleichung wegen sind auch sie graphisch in die Figuren 3, 4 und 5 eingezeichnet und durch die obere gestrichelte Kurve dargestellt.

Versuchstage	Versuch III	Versuch IV	Versuch V	Versuchstage	Versuch III	Versuch IV	Versuch V
1	166,3	129,97	67,44	14	168,48	242,58	64,03
2	264,78	312,42	97,02	15	187,22	234,03	59,22
3	115,14	211,59	94,03	16	202,32	266,16	71,04
4	114,28	108,74	78,16	17	162,69	218,76	50,52
5	330,12	197,07	125,58	18	212,95	243,06	57,66
6	181,61	148,44	55,83	19	181,64	264,93	45,12
7	159,66	157,2	58,15	20	170,34	154,32	66,12
8	132,55	200,23	95,28	21	264,50	271,18	69,9
9	174,39	164,82	106,06	22	181,8	91,71	—
10	158,85	156,33	83,61	23	191,18	219,10	—
11	148,03	184,17	80,89	24	282,28	178,68	—
12	169,18	198,92	69,00	25	181,36	169,47	—
13	175,47	204,15	64,7				

Ein Blick auf diese so korrigierten Kurven lehrt, dafs zwar im grofsen eine gewisse Ähnlichkeit mit den entsprechenden von I und II insofern besteht, als auf den ersten Anstieg ein ziemlich bedeutender Abfall folgt, an den sich ein erneutes Ansteigen fast in derselben Zeitperiode (11. — 20. Tag) anschliefst, dafs aber im einzelnen doch beträchtliche Abweichungen vorhanden sind. Die schon erwähnte Sonderstellung von V bleibt auch jetzt bestehen.

Auch die Zusammenfassung der Werte von 10 Tagen zur Gewinnung einer Gruppenkurve wie bei I und II stellt die Übereinstimmung nicht vollständig her; denn bei Versuch III sind in den ersten 10 Tagen 1797,68 mg CO_2, durchschnittlich 179,76 mg, in den zweiten 10 Tagen 1778,32 mg CO_2, durchschnittlich 177,832 mg CO_2, gebildet worden.

Bei IV sind die entsprechenden Werte

	1786,81 mg	. . .	178,68 mg CO_2
	2211,98 »	. . .	221,198 » »
bei V	861,16 »	. . .	86,116 » »
	628,90 »	. . .	62,89 » »

Es würde bei III und V die stärkste CO_2-Bildung in der ersten Gruppe, bei IV dagegen in der zweiten liegen. Demnach

bestände nur bei Versuch IV eine Übereinstimmung mit Versuch I und II, während sie in erster Linie bei III zu erwarten gewesen wäre. Diese Abweichung der CO_2-Kurve von III würde gegen das Vorhandensein eines Typus sprechen, wie er bei I und II zum Ausdruck gekommen ist. Ich möchte ihr aber in Anbetracht dessen, dafs die Kurve nur durch grofse Umrechnungen gewonnen werden konnte, keine entscheidende Bedeutung beilegen.

Was nun den Ablauf der durch die Bakterienkurven gekennzeichneten Bakterienentwicklung anbetrifft, so läfst sich bei allen drei Versuchen ein ziemlich gleichmäfsiges typisches Verhalten erkennen. Auf den ersten bis zu 4 Tagen sich erstreckenden Anstieg der Bakterienzahlen folgt ein bis zum 11. bezw. 12. Tage reichender Abfall, an den sich dann ein erneuter, bis zum 16 bezw. 17. Tage reichender starker Anstieg mit dem Gipfel am 15. und 16. Tage anschliefst; darauf wiederum bedeutende Abnahme der Bakterienmenge. Betrachtet man weiterhin die Differenzen zwischen den hohen und niedrigen Keimzahlen, so läfst sich nicht verkennen, dafs sie ganz beträchtlich sind. So beträgt z. B. bei Versuch III die Bakterienmenge — es sind natürlich nur die Zahlen für den Kubikzentimeter berücksichtigt worden — am 16. Versuchstage das 59fache von derjenigen am 7., bei Versuch IV die am 16. Versuchstage das 51fache von der am 4. und bei Versuch V das 17fache von der des 6. Versuchstages.

Es mufs für die Beurteilung solcher Unterschiede bei Keimzählungen allerdings zugegeben werden, dafs die gefundenen Werte von verschiedenen Faktoren abhängig sind. Wie schon in der Beschreibung der Versuchsanordnung hervorgehoben ist, liegt gerade bei der Keimzahlbestimmung des Staphylokokkus die Gefahr sehr nahe, dafs nicht einzelne Keime, sondern Haufen zur Aussaat gelangen. Das Ergebnis hätte daher nur einen relativen, aber niemals einen absoluten Wert. Aufserdem ist nicht zu verkennen, dafs auch die infolge der starken Verdünnung notwendigen Multiplikationen eine Rolle spielen. Wenn man aber dabei berücksichtigt, dafs alle diese Keimzählungen

mit peinlicher Genauigkeit und Gleichmäfsigkeit bei Herstellung der Verdünnungen und der Aussaaten ausgeführt sind, so glaube ich doch, dafs ihnen ein Wert namentlich in bezug auf die Vergleichung untereinander, weil immer dieselben Fehlerquellen vorhanden gewesen sind, nicht abgesprochen werden kann. Ferner brauche ich wohl kaum noch besonders zu betonen, dafs ein Fehler durch Verunreinigung auszuschliefsen ist, da durch tägliche Ausstriche auf Agarplatten die Reinheit der Kultur geprüft wurde. Selbst unter Berücksichtigung der Mängel und Ungenauigkeiten, die allen derartigen Keimzahlbestimmungen anhaften, kann man sich doch des Eindruckes nicht erwehren, dafs tatsächlich diese in den Kurven zum Ausdruck kommenden und bei allen drei Versuchen fast gleichmäfsig ausgefallenen Schwankungen der Bakterienzahl auf eine gewisse Periodizität in der Bakterienentwicklung schliefsen lassen. Es würde nach den Kurven auf die anfängliche starke Vermehrung ein schneller und über mehrere Tage sich erstreckender Abfall der fortzüchtungsfähigen Keime erfolgen, dem sich dann wiederum ein bedeutendes Anschwellen und ein erneutes plötzliches Absinken anschlösse. Dieses Ergebnis steht im Widerspruch zu dem, was man nach theoretischen Überlegungen erwarten sollte; denn ist einmal die Zahl der Keime auf ihrem Höhepunkte angelangt, so können die einsetzenden hemmenden oder abtötenden Einflüsse (Stoffwechselprodukte) kaum eine so plötzliche Wirkung ausüben, dafs die Zahl der lebenden Keime so tief heruntersinkt. Wenn sie aber wirklich diese Wirkung haben sollten, dann ist nicht einzusehen, warum dieselbe nach einigen Tagen wieder schwindet. Es wäre allerdings daran zu denken, dafs es sich um flüchtige Produkte handelt, die nach einiger Zeit durch Verdunstung entweichen. Irgendwelche Anhaltspunkte für diese Annahme habe ich aber nicht finden können. Die Möglichkeit einer solchen äufseren Ursache mufs jedoch offen gelassen werden. Ein derartiger in Perioden vor sich gehender Ablauf des Lebens einer Bakteriengeneration würde aufserdem nicht unbedingt mit den Naturgesetzen in Widerspruch stehen. Man kann sich vorstellen, dafs nach der intensiven Lebenstätigkeit

der Bakterien, wie sie in der schnellen Vermehrung zum Ausdrucke kommt, ein Zustand der Erschöpfung, ja auch ein Absterben einzelner Individuen eintritt. Erst nachdem sich die Zelle durch eine Ruhezeit wieder regeneriert hat, ist sie zu erneuter Fortpflanzung befähigt. Die Entscheidung darüber, ob diese periodische Entwicklung in äufseren Einflüssen oder in der Organisation der Zellen ihre Ursache hat, läfst sich heute mit Sicherheit nicht geben. Allein die Tatsache, dafs sie vorkommt, würde eine wesentliche Erweiterung unserer Kenntnisse über das Bakterienleben bedeuten, zumal wenn sie sich durch Nachprüfungen bestätigen und auch bei anderen Bakterienarten feststellen liefse. Ich will hier noch als eine Bestätigung dieser Periodizität anführen, dafs Winter[1]) bei seinen Arbeiten über Ruhrbazillen ähnliche Schwankungen in der Bakterienzahl beobachtet hat.

Was nun das Verhältnis der täglich bestimmten Bakterienmasse zu der gemessenen CO_2-Menge anlangt, so ist schon bei der Beschreibung der Bakterienkurve gesagt worden, dafs nach der Einsaat Bakterien- und CO_2-Kurven scheinbar gleichlaufend sind, dafs aber später, namentlich bei dem 2. Anstieg der Bakterienmenge um den 15. Versuchstag herum, die CO_2-Bildung dem Anwachsen der Bakterienmasse nicht entspricht und dafs an einzelnen Tagen Anstieg und Abfall der beiden Kurven entgegengesetzt gerichtet sind. Einen besseren Einblick in die Beziehungen beider Kurven zueinander erhält man jedoch, wenn man die CO_2-Mengen und die Bakterienzahlen nach den aus den Kurven sich ergebenden Gruppen zusammenfafst, den täglichen Durchschnitt innerhalb der einzelnen Gruppen bestimmt und die durchschnittliche CO_2-Menge und Bakterienzahl von 1 ccm in ein Verhältnis bringt.

Dividiert man die durchschnittliche tägliche Keimzahl von 1 ccm durch die durchschnittliche tägliche CO_2-Menge, so erhält man ein Zahlenverhältnis, welches angibt, wie viel Keime in 1 ccm innerhalb der einzelnen Gruppen auf 1 mg CO_2 kommen würden. Nachstehende Übersicht enthält die gefundenen Zahlen.

1) Vgl. Bemerkung S. 46.

Versuch III.

Der 5. und 6. Tag konnte wegen Fehlens der Keimzahl nicht berücksichtigt werden.

Zusammengefafste Tage	Durchschnittliche tägliche CO_2-Menge in mg	Durchschnittliche tägliche Keimzahl im ccm	Verhältnis der CO_2-Menge zur Bakterienzahl im ccm $CO_2 = 1$.
1.—4.	157,125	1 045 400 000	1 : 6 652 659
7.—10.	127,79	68 600 000	1 : 536 818
11.—17.	121,06	808 542 000	1 : 6 678 854
18.—24.	115,432	482 214 000	1 : 4 177 472
	Versuch IV.		
1.—4.	178,56	162 700 000	1 : 911 178
7.—12.	140,69	239 866 000	1 : 1 704 925
13.—19.	156,82	733 870 000	1 : 4 679 696
20.—24.	96,816	197 420 000	1 : 2 039 125
	Versuch V.		
1.—4.	79,595	920 040 000	1 : 11 559 756
7.—12.	63,12	235 480 000	1 : 3 730 671
13.—19.	44,82	413 300 000	1 : 9 221 329
20.—24.	34,176	58 300 000	1 : 1 705 805

Betrachtet man diese Verhältniszahlen der drei Versuche, so findet man die zahlenmäfsige Bestätigung dessen, was oben bereits ausgesprochen ist, nämlich dafs Bakterien- und CO_2-Kurven nicht gleichlaufend sind. Aufserdem läfst sich die bemerkenswerte Tatsache erkennen, dafs, wenn die Vermehrungstätigkeit der Zellen sehr lebhaft ist, die CO_2-Bildung verhältnismäfsig gering bleibt und umgekehrt, dafs beim Tiefstande der Bakterienzahl eine verhältnismäfsig starke CO_2-Produktion vorhanden ist. Eine Ausnahme macht nur die erste Gruppe in Versuch IV. Ob es sich hierbei um eine Zufälligkeit handelt oder der Einflufs des Gipsgehaltes zur Geltung gekommen ist, will ich unentschieden lassen.

Es würde jedoch diese eine Ausnahme die Gesetzmäfsigkeit in den beiden anderen Versuchen nicht hinfällig machen.

Gegen das tatsächliche Bestehen eines derartigen Verhältnisses der CO_2-Menge zu der Zahl der sie erzeugenden Bakterien könnte

man einwenden, dafs es eine Folge der bei der Keimzahlbestimmung angewandten Methode sei. Durch derartige Keimzählungen würden zwar die fortzüchtungsfähigen Keime bestimmt, nicht aber die noch lebenden, nicht fortzüchtungsfähigen. Abgesehen davon, dafs es überhaupt fraglich ist, ob es lebende, nicht fortzüchtungsfähige Keime gibt, ist weiterhin sehr unsicher, wenn man wirklich mit ihrem Vorkommen rechnet, ob ihnen in diesem Zustande ein praktisch in Betracht kommender Stoffwechsel überhaupt zukommt. Ich möchte hier die Beobachtung anführen, die Burchard[1]) bei der Untersuchung der Harnstoffzersetzung durch den Micrococcus ureae liquef. gemacht hat. Bei einem seiner Versuche zeigten nach der 144. Stunde die Aussaaten kein Wachstum mehr, während gleichzeitig auch die Harnstoffzersetzung aufhörte. Wurde nun der klare, über dem Bakteriensediment stehende Harn abgegossen und frischer Harn zugefüllt, so trat wieder reichliche Bakterienentwicklung auf. Burchard glaubt, aus dem von neuem einsetzenden Bakterienwachstum bei Zusatz von frischem Nährboden den Schlufs ziehen zu können, dafs der Harnstoffspalter in der alten, mit Stoffwechselprodukten angereicherten Kulturflüssigkeit in ein Ruhestadium übergegangen sei, aus dem er durch den neuen Nährboden wieder erweckt sei. Ich will hier nicht darauf eingehen, ob nicht in dem Sediment doch noch einige lebende Keime vorhanden waren, die bei der geringen Aussaatmenge mittels einer Platinöse der Entdeckung entgehen konnten. So viel geht jedenfalls doch aus diesem Versuche hervor, dafs der Micrococcus ureae liquef. im Ruhestadium eine mefsbare Harnstoffzersetzung nicht bewirken konnte. Im allgemeinen gilt aber doch wohl für die vegetativen Bakterienformen der Satz, dafs mit dem Aufhören der Fortzüchtungsfähigkeit auch die Lebenstätigkeit erloschen ist.

Wenn mithin der Abfall der Bakterienmenge beim Staphylokokkus durch das sogenannte Ruhestadium eines Teiles derselben bedingt wäre, so kämen die Bakterien nach Analogie der Burchardschen Beobachtung wenig oder überhaupt nicht für die CO_2-Bildung in Frage. Man ist demnach doch wohl zu der

1) Arch. f. Hyg., Bd. 36, S. 271.

Annahme genötigt, dafs sich tatsächlich die CO_2-Produktion des Einzelindividuums in der Periode der Vermehrungsverlangsamung steigert.

Auch der Einwand, dafs diese eigentümliche Erscheinung durch äufsere Verhältnisse — Zusammenfallen einer erhöhten CO_2-Abgabe aus der Kulturflüssigkeit infolge von Temperatursteigerungen und Erniedrigung des Luftdruckes — bedingt sei, dürfte im Ernste wohl kaum geltend gemacht werden können.

Weiterhin dürfte es von Interesse sein, die Schnelligkeit der Vermehrung und die Teilungszeit einer näheren Untersuchung zu unterziehen. Ich will dabei nur auf die in den ersten 24 Stunden zur Entwicklung gelangten Keimmengen eingehen, weil die erste Zeit nach der Einsaat noch die einfachsten Verhältnisse darbietet.

Man kann nach allem, was wir wissen, wohl annehmen, dafs zu Beginn der Bakterienentwicklung die Vermehrung in Form einer geometrischen Reihe vor sich geht; aus 2 Keimen werden 4, aus 4 8, 16 32 u. s. w. Der Quotient (q) dieser Reihe würde 2 sein. Das Anfangsglied (a) ist durch die Einsaat bestimmt und das Endglied (u) durch die Keimzählung nach 24 Stunden gefunden. Es ist natürlich bei dieser Berechnung die Voraussetzung zu machen, dafs während dieser Zeit alle zur Entwicklung kommenden Keime lebens- und fortzüchtungsfähig bleiben — eine Annahme, die aller Wahrscheinlichkeit nach an den späteren Versuchstagen nicht mehr zutreffend ist.

Wenn man mit x die Zahl der gesuchten Glieder der Reihe bezeichnet, so würde sich x aus der Formel:

$$u = a \cdot q\, x{-}1 \text{ berechnen lassen.}$$

$$q\, x{-}1 = \frac{u}{a}$$

$$(x{-}1) \log q = \log u - \log a$$

$$x = 1 + \frac{\log u - \log a}{\log q}.$$

Bei Versuch III würde bei einem Keimgehalte von 10150 Keimen in 1 ccm nach der Einsaat und einer Vermehrung auf 729600000 nach 24 Stunden eine 17,13malige Teilung erfolgt sein.

Versuch IV. Im Beginn 9840 Keime, nach 24 Stunden 209000000, demnach eine 15,37 malige Teilung.

Versuch V: Im Beginn 9580 Keime nach 24 Stunden 270 720 000 demnach eine 15,78 malige Teilung.

Es ergibt sich also eine Teilungszeit der Keime:

in 1,40 Stunden bei Versuch III
» 1,56 » » » IV
» 1,52 » » » V

Der Versuch, durch direkte Beobachtung im hängenden Tropfen unter dem Mikroskop auf heizbarem Objekttische diese Zeiten bestätigen zu können, mifslang, da infolge der durch die Erwärmung in der Flüssigkeit entstehenden kleinen Strömungen eine andauernde ununterbrochene Beobachtung des einzelnen Keimes notwendig war, um ihn nicht aus dem Auge zu verlieren.

Entsprechend der in den beiden ersten Versuchen unternommenen Bestimmung der Arbeitsleistung der Mikrokokken durch Berechnung der Gesamternte am Schlusse, will ich auch die Leistungen der lebenden, fortpflanzungsfähigen Keime in diesen drei Versuchen in bezug auf die CO_2-Bildung feststellen.

Die oben angeführten Übersichten über das Verhältnis der gebildeten CO_2-Menge zu der in 1 ccm vorhandenen Bakterienzahl lassen im allgemeinen ersehen, dafs starke Vermehrung der Bakterien und CO_2-Bildung einander nicht proportional sind und dafs auch während des Ruhestadiums der Bakterien eine verhältnismäfsig hohe CO_2-Produktion bestehen bleibt. Will man nun eine Vorstellung von der Arbeitsleistung der Kokken gewinnen, dann ist es notwendig, die verschiedenen Stadien bei der Bakterienentwicklung zu berücksichtigen. Man müfste demnach die Arbeitsleistung in bezug auf die CO_2-Bildung in der Zeit der Vermehrung und des Absinkens der Bakterienzahlen bestimmen.

Infolge der Schwierigkeiten, welche die Umrechnung der Bakterienmenge von 1 ccm auf die Gesamtmasse des ganzen Nährbodens an den späteren Versuchstagen macht, mufste ich davon absehen, in den einzelnen Entwicklungsperioden die Leistung zu berechnen. Ich will mich damit begnügen, bei den drei Versuchen nur die Anfangsleistung in den ersten 24 Stunden festzustellen.

Um 1 mg CO^2 in 24 Stunden zu bilden, sind in Versuch III 3069800000, in Versuch IV 1125500000, in Versuch V 2708700000 Keime nötig gewesen. Berechnet man zur Vergleichung mit diesen Werten den entsprechenden aus Versuch II, so ergibt sich: Gebildet waren 6717,59 mg CO_2 von 8248 mg Bakterienmasse, 1 mg CO_2 daher von 0,8144 mg.

Auf 1 mg Staphylokokkenpilzrasen kommen nach der ausgeführten Zählung 1086170211, demnach auf 0,8144 mg = 884577019 Keime. Nach dieser Zahlenzusammenstellung wäre bei Versuch II zwar eine geringere Bakterienmenge zur Produktion von 1 mg CO_2 als bei den anderen drei Versuchen nötig gewesen. Wenn man aber bei der Beurteilung die oben erwähnten Überlegungen berücksichtigt, nach denen bei II wahrscheinlich die Ernte infolge Fehlens der zugrunde gegangenen Individuen zu niedrig angegeben ist, und weiter in Betracht zieht, dafs bei III, IV und V nur die Anfangsleistung ohne Berücksichtigung der späteren Schwankungen herangezogen ist, so mufs man doch zugeben, dafs die gefundenen, auf die Arbeitsleistung für 1 mg CO_2 berechneten Bakterienmengen eine verhältnismäfsig gute Übereinstimmung aufweisen.

Es erübrigt sich noch, kurz auf den Einflufs des Gips- und Marmorzusatzes auf die CO_2-Bildung und das Bakterienwachstum einzugehen.

Es war denkbar, dafs durch Zersetzung der Eiweifskörper so reichliche Mengen von Ammoniak gebildet würden, dafs die daraus folgende starke alkalische Reaktion des Nährbodens eine Wachstumshemmung und Verminderung der Kohlensäureproduktion bewirkte. Bei Gegenwart der zugesetzten Gipsmenge konnte in der Kulturflüssigkeit keine oder nur eine schwache Alkaleszenz auftreten, da das Ammoniak in Form des schwefelsauren Ammoniaks vorhanden war. Die Vergleichung der bei IV gebildeten CO_2- und Bakterienmengen mit denen von III ergibt, dafs allem Anscheine nach eine günstige Wirkung des Gipszusatzes festzustellen ist. Es lassen sich die in III und IV gebildeten Gesamt-CO_2-Mengen gut gegenüberstellen, da einmal die Verringerung des Nährbodens durch die Flüssigkeitsentnahmen eine

gleichmäfsige und ferner auch die Bakterieneinsaat annähernd dieselbe war. Im ganzen wurden in den 25 Versuchstagen bei III 2997,7 mg, bei IV 3150,97 mg CO_2 gebildet, also mehr 153,27 mgr CO_2.

Wenn man dagegen die in 1 ccm gezählten Mikrokokken vergleicht, so überwiegen die bei III gefundenen Werte. Man könnte danach annehmen, dafs der Gipszusatz die Arbeitsleistung gesteigert hätte. Ein Teil des Gipses fand sich am Schlusse des Versuches in der Kulturflüssigkeit gelöst. Bei einer Aschebestimmung fand ich in 100 ccm Nährboden 0,086 g CaO, das Kalzium als Oxalat gefällt und als Oxyd gewogen. Ob dem Gipszusatze tatsächlich diese fördernde Wirkung zuzuschreiben ist, möchte ich nach diesem einen Versuche nicht entscheiden, sondern weitere Untersuchungen vorbehalten.

Im Gegensatze zu dem Gipszusatze scheint derjenige von Marmor keinen günstigen Einfluls auf die CO_2-Bildung ausgeübt zu haben. In den 21 Tagen wurden bei V nur 1116,2 mg CO_2 gebildet, wesentlich weniger als bei III und IV. Die täglichen Durchschnittszahlen zeigen diesen Unterschied sehr deutlich: III 119,9, IV 126 und V 53,15 mg CO_2. Dafs bei dem Wachstum des Staphylokokkus in Peptonbouillon ohne Zuckerzusatz eine stärkere schädigende Säurebildung auftreten würde, war von vornherein nicht zu erwarten. Es konnte die Gegenwart von kristallinischem Kalziumkarbonat völlig indifferent sein oder vielleicht als ein Reizmittel auf die Bakterientätigkeit einwirken. Das Bakterienwachstum war, wenn auch nicht so üppig wie bei III und IV, doch immerhin gut zu nennen, namentlich am Anfang. Die Verhältniszahlen in der betreffenden Übersicht zeigen, dafs fast die doppelte Bakterienmenge wie bei IV nötig war, um 1 mg CO_2 zu bilden. Von dem vorhandenen Kalziumkarbonat waren nach dem Ergebnisse der Aschebestimmung nur Spuren in Lösung übergegangen, eine nennenswerte Säurebildung hatte demnach nicht stattgefunden. Erwähnen will ich jedoch noch, dafs die Reaktion dieser Versuchsbouillon bei Beginn fast neutral war und dafs diesem Umstande möglicherweise eine Bedeutung für das abweichende Ergebnis des Versuches V zukommt.

Im folgenden will ich einige Versuche mitteilen, die in derselben Anordnung ausgeführt wurden wie die vorher angeführten, bei denen jedoch der Peptonbouillon ein Zusatz von Traubenzucker gegeben wurde. Es ist bekannt, dafs der Staphylokokkus in zuckerhaltigen Nährböden ziemlich kräftig Säure bildet, und dafs die Säurebildung solchen Grad erreichen kann, dafs dadurch zuerst das Wachstum gehemmt und schliefslich auch eine Abtötung der Keime bewirkt wird. Smith[1]) gibt an, dafs in einer 1 proz. Milchzuckerbouillon schon nach 10—14 Tagen ein Absterben der Staphylokokken infolge der Säurebildung erfolgt. Es war nach diesen Erfahrungen zu erwarten, dafs die Versuche bereits nach kurzer Zeit beendet sein würden. Zunächst habe ich bei einem Versuch den Ablauf der Kohlensäureproduktion ohne besondere Berücksichtigung der Zahl der lebenden Keime festgestellt. Zur Ausführung wurden 500 ccm einer2 proz. Traubenzucker-Peptonbouillon von schwach alkalischer Reaktion benutzt. Die gefundenen Werte sind in der folgenden Übersicht zusammengestellt, und zwar enthält Spalte 1 die täglich gemessenen CO_2-Mengen und Spalte 2 die 24 stündigen, nach der stündlichen Leistung berechnet. Die täglichen Durchlüftungsgröfsen wurden unberücksichtigt gelassen, da nach den Ergebnissen der früheren Untersuchungen eine ins Gewicht fallende Beeinflussung der Kohlensäureproduktion ihnen nicht zukommt.

Wie bei Versuch I und II wurde die aus dem Versuchskolben austretende Luft über konzentrierte Schwefelsäure geleitet, um das möglicherweise gebildete flüchtige NH_3 zu binden. Die graphische Darstellung der in Spalte 2 enthaltenen 24 stündigen Werte befindet sich in Figur 6.

Der Ablauf der CO_2-Bildung gestaltete sich in diesem Versuche im einzelnen folgendermafsen: In den ersten Tagen tritt ein gleichmäfsiges schnelles Ansteigen der CO_2-Menge ein, darauf fällt die Kurve bis zum 6. Tage ebenso gleichmäfsig ab bis auf ungefähr den 5. Teil des am 2. Tage erreichten Höchstwertes. Vom

[1]) Kolle und Wassermann, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Bd. III, S. 117.

7. Tage setzt ein frischer fast ebenso starker Anstieg wie zu Anfang ein, dem gleichfalls ein steiler Abstieg bis zum 15. Tage folgt. Vom 16. Tage ab sinkt die Kurve dann langsam und gleichmäfsig, nur am 27. Tage noch von einem kleineren Anstieg unterbrochen, bis zum Aufhören der CO_2-Bildung am 33. Tage. Dieser Ablauf der Kohlensäureproduktion läfst deutlich drei gröfsere Perioden erkennen. Die erste reicht vom 1. bis 6. Tage, die zweite vom 7. bis 14. und die dritte umfafst den Schlufs des Versuches vom 15. bis 33. Tage. Während die beiden ersten Perioden durch je einen steilen Anstieg und Abfall charakterisiert sind, zeigt die Schlufsperiode, abgesehen von der kleinen Erhebung am 27. Tage, in der Hauptsache das langsame Absinken der CO_2-Produktion.

Versuch VI.

500 ccm 2 proz. Traubenzuckerlösung von schwach alkalischer Reaktion.

Tage	Gemessene CO_2-Menge in mg	24 stündige CO_2-Menge nach der stündlichen Leistung berechnet in mg	Tage	Gemessene CO_2-Menge in mg	24 stündige CO_2-Menge nach der stündlichen Leistung berechnet in mg
1	181,5	198,0	18	51,92	58,56
2	260,48	270,72	19	36,08	38,88
3	138,16	201,6	20	36,08	37,15
4	158,4	158,4	21	36,08	36,08
5	67,76	90,24	22	31,68	34,32
6	54,56	53,88	23	15,84	23,76
7	67,76	70,32	24	31,68	31,22
8	190,52	207,36	25	27,28	23,28
9	228,8	259,44	26	13,64	18,16
10	222,2	231,84	27	56,76	52,32
11	210,76	219,36	28	25,08	31,68
12	145,2	199,68	29	20,24	20,78
13	176,88	150,0	30	11,44	12,21
14	74,8	78,0	31	11,44	12,19
15	63,36	67,68	32	9,06	7,75
16	54,56	76,32	33	3,39	4,24
17	61,16	58,32			

Einen besseren Überblick über diese Periodizität und den Ablauf der sich daraus ergebenden CO_2-Kurve erhält man, wenn man wiederum je 7 Tage, wie es ähnlich auch schon in den

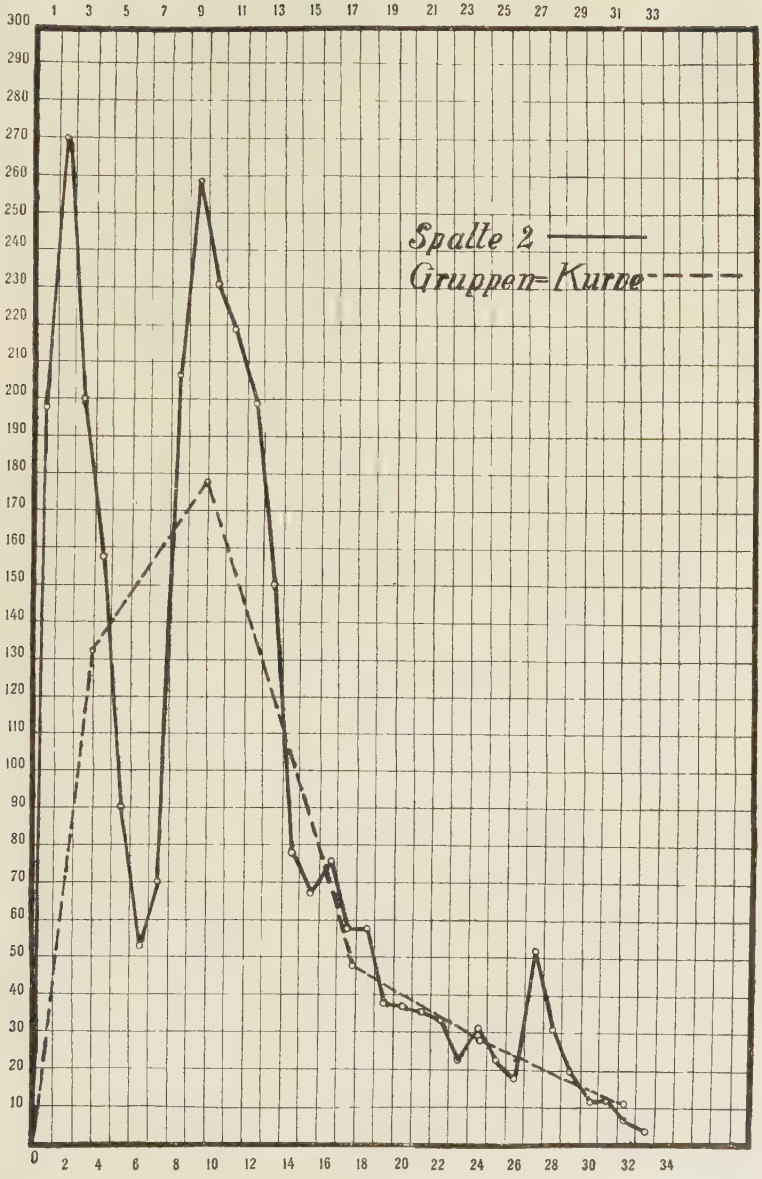

Fig. 6.

früheren Versuchen geschehen ist, zu einer Gruppe zusammengefafst und den Durchschnitt dieser Gruppen berechnet. Zur Gewinnung dieser Kurve sind von den CO_2-Werten der Spalte 1 je 7 Tage zusammengezogen und der tägliche Durchschnitt bestimmt. Die Gruppendurchschnittswerte sind ebenfalls in Figur 6 graphisch eingezeichnet.

Tage	Gesamt-CO_2-Menge in mg	Täglicher Durchschnitt in mg	Gruppen-differenz
1.—7.	928,62	132,66	+ 45,79
8.—14.	1249,16	178,45	— 129,99
15.—21.	339,24	48,46	— 19,61
22.—28.	201,96	28,65	— 17,74
29.—33.	55,57	11,114	—

Nach dieser Kurve ist die CO_2-Bildung mit der zweiten Periode in der Zeit vom 8. bis 14. Tage durchschnittlich am höchsten gewesen. In der dritten, vom15. bis 21. Tage, setzt dann der starke bis zum Schlusse anhaltende Abfall der CO_2-Werte ein. Die Differenzen der Gruppendurchschnittswerte sind aus der letzten Spalte ersichtlich (+ bedeutet den Zuwachs, — die Abnahme). Die Ähnlichkeit dieser Kurve mit der entsprechenden von Versuch I und II ist unverkennbar, ich will jedoch darauf erst später bei Besprechung der anderen Kurven näher eingehen.

Die Gesamtmenge der in den 33 Tagen gebildeten Kohlensäure betrug 2774,55 mg, das entspricht einer täglichen Durchschnittsleistung von 84,077 mg CO_2. Berechnet man danach die während des Versuches zu CO_2 oxydierten Kohlenstoffmengen, so ergeben sich als die entsprechenden Werte 756,69 und 22,93 mg C.

In der zur Absorption des gebildeten flüchtigen Ammoniaks vorgelegten Schwefelsäure liefs sich NH_3 nicht nachweisen; ein Beweis dafür, dafs alles flüchtige NH_3 zur Abstumpfung der entstandenen Säure verbraucht worden war. Die Bestimmung der in der Kulturflüssigkeit enthaltenen Ammoniakverbindungen durch Destillation mittels Natrium carbonat wurde nicht ausgeführt. Ferner habe ich versucht, nach der bei Versuch II näher erläu-

terten Methode die Gesamtbakterienernte zu bestimmen. Es wurden für 100 ccm Nährboden als Differenz zwischen der bakterienhaltigen und keimfrei filtrierten Kulturflüssigkeit 27,13 mg N gefunden, die als Bakteriensubstanz in Rechnung zu setzen sind. Da 500 ccm vorhanden waren, so würden als Bakterienernte $27{,}13 \times 5 = 135{,}65$ mg N in Betracht kommen. 1 mg eines nicht getrockneten 24 stündigen Staphylokokkenpilzrasens, auf Agar gezüchtet, liefert 0,02249 mg N, demnach würde eine Ernte von 135,65 mg N einer feuchten Bakterienmasse von 6,031 g entsprechen. Von 1 g Bakterienmasse wären demnach in 33 Tagen 0,125 g C zu CO_2 oxydiert worden, oder täglich 0,00378 g.

Die folgenden drei Versuche, VII, VIII und IX sind analog den besprochenen Versuchen III, IV und V angestellt. Es sollte durch sie das Verhältnis der gebildeten Kohlensäure zu der vorhandenen lebenden und fortzüchtungsfähigen Bakterienmenge ermittelt werden. Die in IV und V verwendeten Zusätze von Gips und Marmor wurden jedoch weggelassen. Ferner ist zu erwähnen, dafs diese Versuche nicht gleichzeitig angestellt wurden, sondern nacheinander, und dafs damit im Zusammenhange stehend auch zu verschiedenen Zeiten bereitete Bouillon zur Verwendung kam. Während bei Versuch VII ein Zusatz von 3% Traubenzucker gewählt wurde, erhielt die Bouillon von VIII und IX nur 2%.

Versuch VII.

700 ccm 3proz. Traubenzuckerpeptonbouillon von schwach alkalischer Reaktion.

Tage	Gemessene CO_2-Menge in mg	24stündige CO_2-Menge nach der stündlichen Leistung berechnet in mg	Keimzahl in 1 ccm Einsaat 9 840.
1	127,2	127,2	209 800 000
2	97,68	260,48	52 000 000
3	96,8	96,8	2 000 000
4	67,8	67,8	Platten verunglückt
5	53,84	53,84	» »
6	31,5	30,24	2 000
7	0	—	95
8	0	—	220

Versuch VIII.

700 ccm einer 2 proz. Traubenzuckerpeptonbouillon von schwach alkalischer Reaktion.

Tage	Gemessene CO_2-Menge in mg	24 stündige CO_2-Menge nach der stündlichen Leistung berechnet in mg	Keimzahl im ccm Einsaat 902	Reaktion des entnommenen Nährbodens
1	115,72	131,30	226 500 000	neutral
2	161,04	168,0	75 733 000	neutral — schwach sauer
3	147,4	152,88	58 250 000	schwach sauer
4	97,24	133,68	30 730 000	deutlich sauer
5	147,4	124,99	1 630 000	» »
6	77,00	80,32	1 516 000	stark sauer
7	102,08	109,12	2 500 000	» »
8	81,4	113,76	300 000	» »
9	68,2	65,04	45 000	» »
10	56,76	63,84	1 400	» »

Versuch IX.

700 ccm 2 prozentiger Traubenzuckerpeptonbouillon von schwach alkalischer Reaktion.

Tage	Gemessene CO_2-Menge in mg	24 stündige CO_2-Menge nach der stündlichen Leistung berechnet in mg	Keimzahl im ccm Einsaat 5275	Reaktion des entnommenen Nährbodens
1	17,6	17,6	9 500 000	neutral
2	136,4	145,68	268 750 000	»
3	264,0	325,68	611 200 000	sauer
4	149,6	154,08	934 500 000	»
5	189,2	194,88	894 250 000	»
6	145,2	150,48	98 300 000	stark sauer
7	92,4	109,92	2 650 000	» »
8	96,8	100,32	1 000 000	» »
9	26,4	27,12	—	—

Die graphischen Aufzeichnungen der CO_2- und Bakterienkurven sind auf Figur 7, 8 und 9 enthalten. Für diese drei Versuche will ich hier gleich bemerken, dafs NH_3 in der vorgelegten Schwefelsäure ebenso wie in Versuch VI nicht nachgewiesen werden konnte.

Versuch VII.

Die CO_2-Kurve erhebt sich in den ersten beiden Tagen bis zum Gipfel und fällt dann steil und gleichmäfsig bis zum Schlusse am 6. Tage ab. Dasselbe Bild zeigt die Bakterienkurve allerdings mit dem Unterschiede, dafs die Höchstzahl der Bakterien bereits am 1. Tage erreicht wird. Am 3. ist sie schon auf 2000000 im Kubikzentimeter herabgesunken. Am 4 und 5. Tage konnte leider keine Bestimmung ausgeführt werden.

Ich habe diesen Versuch trotz Aufhörens der CO_2-Bildung am 7. Tage, bis zum 20. Tage weitergeführt. Es wäre nämlich denkbar, dafs später, nachdem sich vielleicht die lebenskräftigsten Bakterien der veränderten Reaktion des Nährbodens angepafst hätten, von neuem eine stärkere Bakterienentwicklung und auch Kohlensäurebildung zustande gekommen wäre. Ein völliges Absterben trat während der 20tägigen Versuchszeit nicht ein. Durch Aussaat von $^1/_2$—1 ccm der unverdünnten Kulturflüssigkeit liefsen sich immer noch lebende Keime nachweisen unter Schwankungen von 500 bis 2000 im Kubikzentimeter. Eine mefsbare Kohlensäureproduktion war jedoch nicht mehr vorhanden.

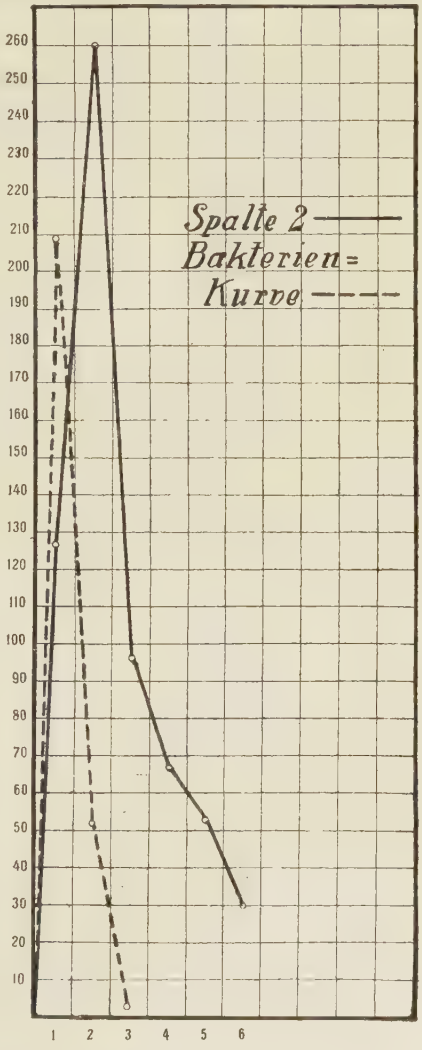

Fig. 7.

Versuch VIII. (Figur 8.)

Anstieg der CO_2-Kurve wie bei VII. Der Abfall erfolgt bis zum 6. Tage gleichmäfsig, darauf zeigt sich am 7. und 8. Tage von neuem ein kleiner Anstieg, an den sich dann ein ebenmäfsiges Absinken bis zum Schlusse des

Versuches am 11. Tage anschliefst. Die Bakterienkurve erreicht ihren Höhepunkt bereits am 1. Tage und fällt dann gleichmäfsig und steil bis zum 5 ab. Am 7. Tage, dem zweiten Anstieg der CO_2-Kurve entsprechend, findet sich noch eine ganz geringe Erhebung um 1 000 000 im Kubikcentimeter und dann sinkt sie schnell bis zum Schlusse ab.

Fig. 8.

Versuch IX. (Figur 9.)

Bei diesem Versuche ist eine Verzögerung des Anstieges der CO_2-Kurve vorhanden; der Gipfel wird erst am 3. Tage erreicht. Der sich daran anschliefsende schnelle Abfall wird durch ein geringes Ansteigen der Kurve

am 5. Tage unterbrochen. Die Kohlensäureproduktion war am 9. Tage beendet. Die Bakterienkurve zeigt einen entsprechenden Verlauf in Bezug auf die Verzögerung des Anstieges. Die Höchstzahl der Keime wird erst am 4. Tage erreicht und hält sich fast in derselben Höhe bis zum 5. Darauf folgt ein sehr steiler ununterbrochener Abfall bis zum 7. Tage.

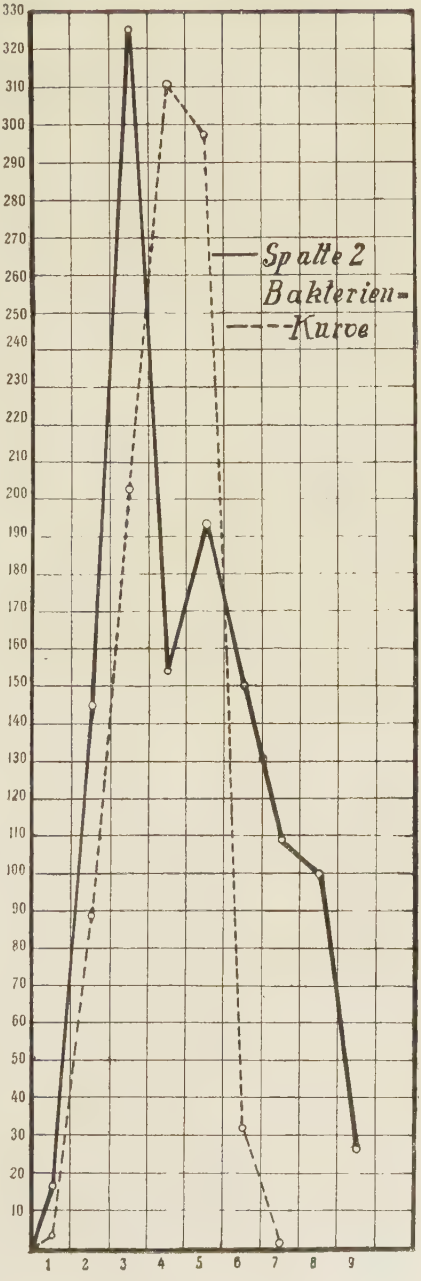

Fig. 9.

Vergleicht man die CO_2-Kurven dieser drei Versuche miteinander, so läfst sich eine grofse Übereinstimmung im Ablauf feststellen. Auf ein sehr schnelles Emporschnellen der Kohlensäureproduktion folgt ein Absinken derselben, das sich allerdings bei den einzelnen Versuchen etwas verschieden gestaltet. Während bei VII der absteigende Schenkel keine Unterbrechung durch Anstieg zeigt, ist eine solche bei VIII und IX vorhanden. Auch hört bei VII die CO_2-Produktion wohl infolge des gröfseren Traubenzuckergehaltes der Nährbouillon eher auf. Bei VIII scheint das langsamere Absinken eine Folge der schwächeren Anfangserhebung der CO_2 Bildung zu sein; der Einflufs der Säurebildung ist nicht so schnell zur Geltung gekommen. Worauf die Verzögerung der CO_2-Bildung und

auch der Bakterienentwicklung in Versuch IX beruht hat, habe ich nicht feststellen können; an dem Gesamtbilde der Kurven wird durch dieses Verhalten nichts geändert.

In gleicher Weise stimmen auch die Bakterienkurven überein. Solange der Nährboden noch eine neutrale bis schwach saure Reaktion hat, steigt die Bakterienentwicklung an. Mit der fortschreitenden Säuerung sinkt die Zahl der Keime schnell ab und hält sich auf einem Minimum, dem eine bemerkbare Lebensäufserung in Bezug auf die Kohlensäureproduktion nicht mehr zukommt. Nach dem Ergebnis der Keimzählung bei Versuch VII bin ich der Überzeugung, dafs sich eine Reihe von Bakterien in diesem stark sauren Nährboden noch viel länger als 20 Tage fortzüchtungsfähig halten. Es kommt bei ihrem Nachweise nur darauf an, dafs man sich nicht mit der in einer Platinöse enthaltenen Nährbodenmenge begnügt, sondern gröfsere Aussaaten macht.

Es fragt sich nun, wie sich der in Versuch VI gefundene CO_2-Ablauf mit demjenigen dieser drei Versuche vereinigen läfst. Trotzdem der Traubenzuckergehalt, die sonstigen Zutaten zur Nährbouillon und die Versuchsanordnung bei VI, VIII und IX gleich waren, dauerte die CO_2-Bildung bei VI 33 Tage, die bei den beiden andern Versuchen nur 10 bzw. 9 Tage. Aufserdem zeigt die CO_2-Kurve von VI insofern eine wesentliche Abweichung, als in der Zeit vom 7. bis 14. Tage eine nochmalige starke Kohlensäurebildung nach vorhergehendem steilen Abfall am 6. Tage eingetreten ist. Wenn eine ähnliche Schwankung bei VIII und IX auch angedeutet ist, am 7. und 8., bzw. 5. Tage, so läfst sie sich mit derjenigen von VI doch nicht in Parallele stellen. Als ich bei dem Versuche VI diese Schwankungen beobachtete, dachte ich zunächst an eine Verunreinigung der Kultur, führte aber trotzdem den Versuch zu Ende. Umsomehr war ich jedoch überrascht, als am Schlusse des Versuches ein Ausstrich auf Agar mich davon überzeugte, dafs nur Staphylokokken gewachsen waren. Probeentnahmen liefsen sich während des Versuches infolge Fehlens der Entnahmevorrichtung nicht machen. Wenn man annehmen mufs, dafs in der Traubenzuckerbouillon der

Ablauf der Kohlensäurebildung und des Bakterienwachstums von der auftretenden Säuerung des Nährbodens abhängig ist, eine Tatsache, die durch drei gleich ausgefallene Versuche erwiesen scheint, so ist man wohl zu der Annahme genötigt — der sichere Beweis dafür ist jedoch nicht erbracht — dafs bei VI, trotz der Reinkultur am Schlusse zu Anfang doch eine Sekundärinfektion stattgefunden hat, die aber am Ende infolge Zugrundegehens der infizierenden Keime nicht mehr nachweisbar war. Eine andere Erklärung für diese Abweichung habe ich nicht ermitteln können.

Die Berechnung der Arbeitsleistung der fortzüchtungsfähigen Keime ergibt folgendes:

Bei Versuch VII wurde in den ersten 24 Stunden 1 mg CO_2 von 1 121 000 000 Keimen gebildet. Bei Versuch VIII kamen auf 1 mg CO_2 1 173 000 000 Keime.

Versuch IX weicht infolge der Entwicklungsverzögerung in den ersten 24 Stunden von den beiden andern ab, auf 1 mg CO_2 entfielen nur 367 000 000 Keime, dagegen wurde nach Ablauf von 48 Stunden 1 mg CO_2 von 1 217 000 000 Keimen produziert, eine Zahl, die sich denen der beiden andern Versuche gut anpafst.

Eine Vergleichung dieser Werte mit den entsprechenden von III, IV und V ergibt, dafs weniger Keime in der Traubenzuckerbouillon für die Bildung von 1 mg CO_2 nötig waren. Man könnte daraus schliefsen, dafs der Zuckerzusatz die Energie der Staphylokokken gesteigert hätte.

Die Häufigkeit der Teilung in den ersten 24 Stunden würde sich nach der oben angegebenen Formel aus Einsaatmenge und Zahl der nach 24 Stunden zur Entwicklung gekommenen Keime folgendermafsen berechnen lassen.

Versuch VII in 24 Stunden 17,58 malige Teilung,
» VIII » 24 » 21,48 » »
» IX » 24 » 11,81 » » (Wachstumsverzög.);
danach wäre bei VII nach 1,36 Stunden,
» VIII » 1,11 »
» IX » 2,03 » die Teilung

der einzelnen Individuen beendet gewesen.

Bei VII und VIII konnte die Bakterienernte nicht bestimmt werden, da die Kulturflüssigkeit zur Untersuchung auf anderweitige Stoffwechselprodukte verbraucht wurde.

Bei IX ergab die Erntebestimmung für 100 ccm 18,29 mg als Bakterienstickstoff. Da zu den Keimzählungen 180 ccm verbraucht wurden, waren am Schlusse noch 520 ccm Nährbouillon vorhanden. Demnach waren als Bakterienstickstoff insgesamt 95,108 mg in Anrechnung zu bringen. Wenn man jedoch annehmen will, dafs die Konzentration der Bouillon in Bezug auf Bakterienleiber nach dem Maximum der Keimentwicklung ziemlich konstant geblieben ist, so ergäbe die Umrechnung des für 100 ccm gefundenen N auf 700 ccm ohne einen sehr bedeutenden Fehler zu machen, die Gesamternte. Allerdings würde dann bei der Beziehung der Gesamternte auf die Gesamt-CO_2-Produktion zu berücksichtigen sein, dafs die in den 180 ccm enthaltenen Keime für die CO_2-Bildung zum Teil ausgeschaltet waren. Die Berechnung der Arbeitsleistung würde demnach zu gering ausfallen. Ich will daher ohne Berücksichtigung der CO_2-Menge nur die Gesamternte für diesen Versuch bestimmen. In 700 ccm Versuchsbouillion waren 128,03 mg N als Bakterienstickstoff enthalten. Diese Stickstoffmenge entspricht einer auf Agar gewachsenen nicht getrockneten Staphylokokkenmenge von 5,69 g.

Die vier Versuche mit Traubenzuckerbouillon haben deutlich gezeigt, dafs die infolge der Zuckerzersetzung, einer Wirkung des Bakterienstoffwechsels, eintretende Säuerung des Nährbodens eine schnell einsetzende Hemmung des Bakterienwachstums und des Stoffwechsels bedingt. Es war daher von grofsem Interesse zu untersuchen, wie sich der in der CO_2-Bildung zum Ausdruck kommende Stoffwechsel bei Ausschaltung der Säurewirkung gestalten würde.

Um die gebildete Säure abzustumpfen, wurde in den nächsten beiden Versuchen der Traubenzuckerbouillon eine genügende Menge von Marmor zugesetzt. Im übrigen war die Zusammensetzung der Nährflüssigkeit genau wie die bei VI, VIII und IX.

Versuch X.

500 ccm 2proz. Traubenzuckerpeptonbouillon von schwach alkalischer Reaktion. Zusatz von 100 g Marmor.

Tage	Gemessene CO_2-Menge in mg	24stündige CO_2-Menge nach der stündlichen Leistung berechnet in mg	Tage	Gemessene CO_2-Menge in mg	24stündige CO_2-Menge nach der stündlichen Leistung berechnet in mg
1	263,45	287,28	29	65,56	67,2
2	427,9	444,48	30	51,92	55,44
3	458,7	673,2	31	149,55	159,6
4	308,0	308,0	32	124,52	106,8
5	266,25	354,96	33	49,85	62,47
6	201,51	198,96	34	106,48	88,08
7	274,12	284,16	35	90,64	118,2
8	235,84	256,56	36	135,96	134,16
9	158,4	179,04	37	123,32	126,00
10	149,52	156,0	38	102,08	104,16
11	161,04	166,94	39	127,6	130,32
12	104,28	143,28	40	110,0	114,72
13	206,36	174,96	41	101,2	103,44
14	181,28	189,12	42	83,6	86,16
15	115,72	123,6	43	127,6	132,0
16	65,56	91,68	44	22,0	23,52
17	92,84	88,56	45	110,0	118,32
18	99,88	112,32	46	92,4	88,56
19	169,84	182,88	47	52,8	56,64
20	90,64	93,36	48	110,0	107,76
21	142,56	142,56	49	96,8	98,88
22	24,9	26,97	50	105,6	109,44
23	27,28	40,8	51	88,0	90,48
24	194,22	192,0	52	74,8	74,8
25	128,48	109,92	53	88,0	91,68
26	138,16	184,08	54	88,0	111,12
27	126,72	116,88	55	66,0	68,88
28	120,12	151,68			

Am 55. Tage wurde der Versuch abgebrochen, obwohl noch eine reichliche Menge CO_2 gebildet wurde. Auch bei diesem Versuche war in der vorgelegten Schwefelsäure kein flüchtiges NH_3 absorbiert worden. Die graphische Darstellung des CO_2-Ablaufes findet sich in Figur 10. Wegen der hohen Zahlen, namentlich zu Anfang des Versuches, mufste eine Kürzung der CO_2-Werte

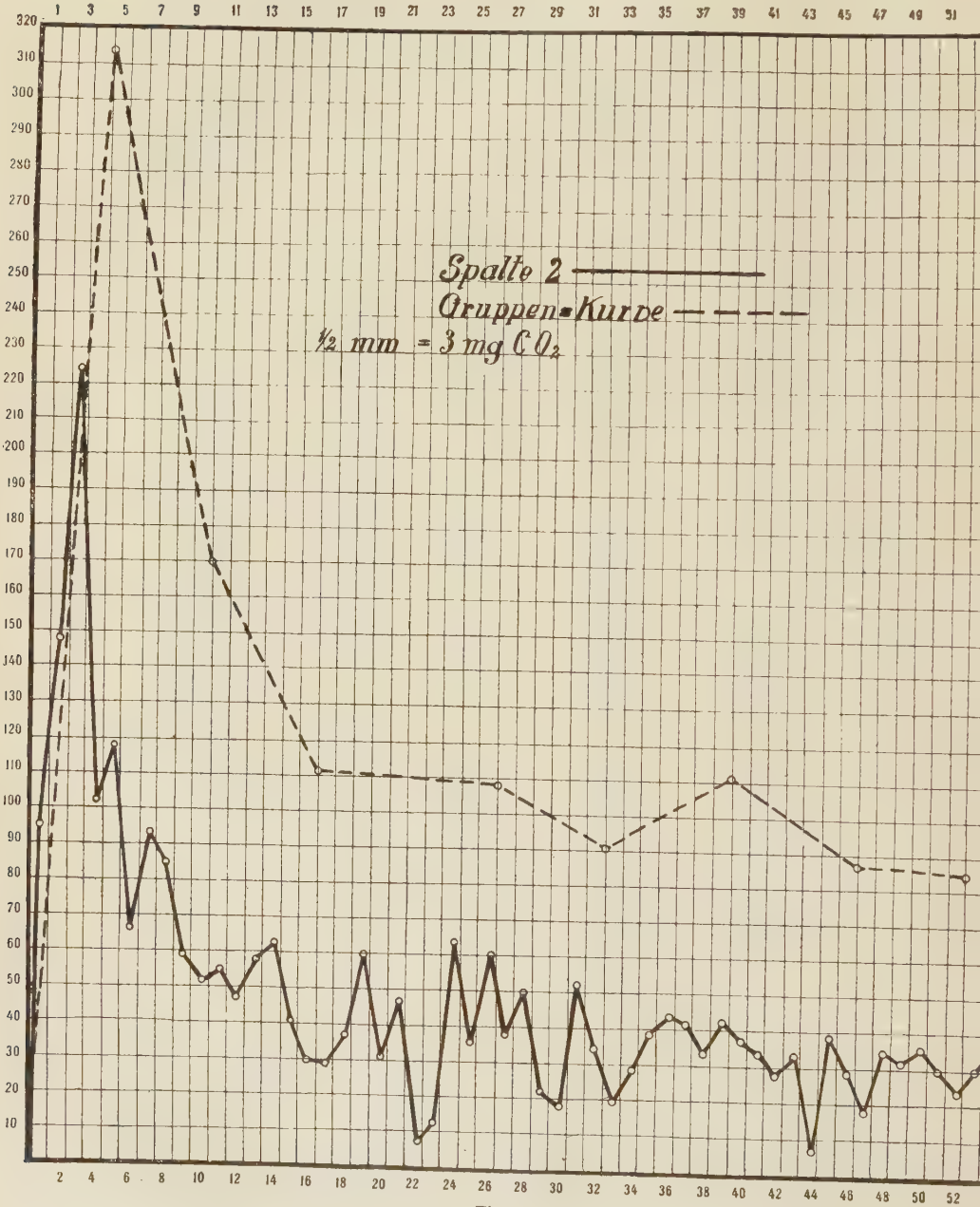

Fig. 10.

durch Division durch 3 vorgenommen werden, da die Figur sonst einen zu grofsen Umfang bekommen hätte.

Wie bei den vorhergehenden CO_2-Kurven so tritt auch hier gleich zu Anfang in den drei ersten Tagen die Höhe der CO_2-Bildung auf. Vom 3. Tage ab sinkt sie zuerst ziemlich stark, dann langsamer unter kleineren Schwankungen bis zum 17. Tage ab und hält sich unter Schwankungen um eine mittlere Höhe ziemlich konstant bis zum 55. Tage. Einzelne in die Augen fallende Perioden lassen sich schwer aus diesem Ablauf heraus lesen. Um die kleineren Tagesdifferenzen auszuschalten, die ihre Ursache in äufseren Verhältnissen (Schwankung der Brutschranktemperatur u. ä.) haben können, will ich ebenso wie bei Versuch VI mehrere Tage zu einer Gruppe zuzammenfassen und durch Berechnung der täglichen Gruppendurchschnittswerte die Daten für die Gruppenkurve feststellen.

Tage	Gesamt-CO_2 Menge in mg	Täglicher Durchschnitt in mg	Differenzen der einzelnen Gruppen
1.—7.	2199,94	314,28	— 143,32
8.—14.	1196,72	170,96	— 59,96
15.—21.	777,04	111,005	— 2,35
22.—28.	760,58	108,65	— 17,43
29.—35.	638,52	91,22	+ 20,74
36.—42.	785,76	111,96	— 24,66
43.—49.	611,60	87,3	— 2,24
50.—55.	510,4	85,06	—

Das Bild dieser Kurve (vgl. die gestrichelte Kurve in Figur 10) entspricht im ganzen dem bereits vorher Gesagten. Auf den ersten starken Anstieg folgt schneller und erheblicher Abfall der Kohlensäurewerte, bis zur 3. Gruppe sich hinziehend. Dann sinkt die Kurve ganz langsam und wird nur von einer kleinen Steigung in der 6. Gruppe (36.—42. Tag) unterbrochen. Gleichzeitig erkennt man, dafs einmal der Versuch mit dem 55. Tage noch lange nicht beendet gewesen ist und zweitens, dafs

lediglich das Auftreten der Säure in Versuch VI bis IX das Aufhören der Bakterientätigkeit verursacht hat.

Die bei weitem höheren Kohlensäurewerte im Anfange dieses Versuches sind durch den Zusatz kristallinischen Kalziumkarbonats zum Teil mit bedingt, aus dem bei Bindung der Säure CO_2 abgespalten und mit dem CO_2 des Stoffwechsels gemessen wurde.

Insgesamt betrug die CO_2-Bildung während der 55 Tage 7480,56 mg, davon sind die aus dem Kalziumkarbonat stammenden CO_2-Mengen in Abzug zu bringen. Die Aschebestimmung am Schlusse ergab in 100 ccm 0,414 g CaO, in 500 ccm demnach 2,070 g CaO.

$$2{,}070 \text{ g CaO} = 1{,}42712 \text{ g } CO_2$$

$$7{,}48056$$

$$-\ 1{,}42712$$

demnach 6,05344 g CO_2,

die durch Oxydation des im Nährboden vorhandenen Kohlenstoffes entstanden waren.

Diese CO_2-Menge entspricht einer Kohlenstoffmenge von 1,650 g. Im Durchschnitt sind dann täglich 0,03 g C oxydiert worden.

Die Bakterienernte stellte sich für diesen Versuch für 100 ccm auf 27,51 mg N für Bakterien, für 500 ccm = 137,55 mg N = 6,116 g feuchte Staphylokokkenmasse.

Es sind mithin von 6,116 g Bakterien = 1,650 g C oxydiert worden, von 1 g Bakterien = 1,65 : 6,116 = 0,269 g C oder täglich = 0,00489 g C.

Der nächste Versuch stellt einen Parallelversuch zu X dar. Die Nährbouillon hatte die gleiche Zusammensetzung; auch wurde wiederum zur Abstumpfung der Säure ein Marmorzusatz gewählt. Aufser den CO_2-Mengen wurden täglich auch die Keimzahlen im Kubikzentimeter festgestellt.

Versuch XI.

700 ccm 2 proz. Traubenzuckerpeptonbouillon von schwach alkalischer Reaktion.

Tage	Gemessene CO_2-Menge in mg	24 stündige CO_2-Menge nach der stündlichen Leistung berechnet in mg	Keimzahl im ccm Einsaat 68160	Reaktion des Nährbodens
1	189,78	207,36	1 250 000	
2	331,1	343,2	302 000 000	
3	617,65	907,2	995 000 000	
4	566,5	566,5	77 750 000	
5	421,52	562,8	45 250 000	
6	541,2	533,52	53 500 000	
7	560,83	581,28	62 580 000	
8	222,2	241,64	2 300 000	
9	179,08	203,28	1 000 000	
10	151,8	158,4	5 133 000	
11	147,4	152,88	205 875 000	schwach sauer
12	65,56	90,168	181 150 000	»
13	135,92	115,2	11 630 000	»
14	106,48	111,12	2 100 000	»
15	79,2	84,72	4 900 000	»
16	74,8	104,64	138 250 000	»
17	70,4	67,176	832 000 000	neutral
18	110,88	124,8	673 000 000	»
19	79,2	85,2	439 500 000	»
20	67,76	69,79	420 000 000	»
21	63,36	63,36	343 560 000	»
22	52,32	56,64	234 250 000	alkalisch
23	31,68	47,52	431 500 000	»
24	63,36	62,4	205 630 000	»
25	83,6	71,42	752 000 000	»
26	40,92	54,48	708 750 000	»
27	67,98	62,64	761 500 000	»
28	43,92	55,44	396 000 000	»
29	20,24	20,78	438 400 000	»
30	18,128	19,36	138 750 000	»

In der vorgelegten Schwefelsäure war kein NH_3 nachweisbar.

Der Versuch mufste mit dem 30. Tage abgebrochen werden, da der Nährboden bis auf 100 ccm durch die täglichen Keimzählungen verbraucht war. Die Reinheit der Kultur wurde aufser durch die Gelatineplatten noch durch Ausstriche auf Agar

täglich festgestellt. Die CO_2-Mengen und Bakterienzahlen sind in demselben Verhältnis wie bei Versuch X reduziert.

Der Ablauf der CO_2-Kurve entspricht vollständig dem in Versuch X. Zuerst erfolgt ein bedeutender Anstieg bis zum 3. Tage, dann sinkt die Kurve ziemlich gleichmäfsig und schnell bis zum 12. Tage und hält sich ohne wesentliche Tagesschwankungen auf einer gewissen Höhe. Es ist in diesem Versuche natürlich zu berücksichtigen, dafs schon durch die tägliche Verringerung des Nährbodens eine stetige Abnahme der CO_2-Menge eintreten mufste.

Sehr interessante Verhältnisse bietet die Bakterienkurve dar. In den ersten 24 Stunden ist die Keimentwicklung langsam; ihren Höhepunkt erreicht sie am 3. Tage und sinkt dann sehr schnell bis zum 9. Tage ab. Darauf beginnt ein abermaliger kleinerer Anstieg bis zum 11. Tage und ein zweiter Abfall bis zum 14. Während dieser Periode war die Reaktion des Nährbodens schwach sauer. Mit dem 15. Tage setzt wieder eine stärkere Bakterienentwickelung bis zum 17. Tage ein — (neutrale Reaktion), der ein erneuter Abfall folgt. Dieselbe Erscheinung — Anstieg und Absinken — wiederholt sich in der Zeit vom 24. bis 30. Tage, nachdem der Nährboden bereits eine alkalische Reaktion angenommen hat. Es wären demnach vier Entwickelungsperioden von je 7tägiger Dauer in dem 30 Tage gehenden Versuche zu unterscheiden. Die geringe Höhenentwicklung in der zweiten ist wohl durch die schwach saure Reaktion des Nährbodens bedingt, während bei den letzten beiden bereits eine neutrale bzw. alkalische Reaktion eingetreten war. Auffallend ist, dafs die CO^2-Kurve, abgesehen vom Anfang, gar keine der Bakterienkurve entsprechende Schwankungen aufweist.

Berechnet man, um die Beziehung zwischen der Kohlensäureproduktion und den Keimzahlen zu erhalten, die täglichen Durchschnittswerte innerhalb der vier Perioden sowohl den der CO_2-Menge, wie auch der Keime im Kubikzentimeter, so erhält man folgende Übersicht:

Tage	Durchschnittliche tägliche CO_2-Menge in mg	Durchschnittliche Keimzahl in ccm	Verhältnis der CO_2-Menge zur Keimzahl
1.—7.	461,22	219 619 000	1 : 476 169
8.—14.	144,06	58 455 400	1 : 405 771
15.—21.	77,94	406 615 000	1 : 5 345 329
22.—28.	54,82	498 518 000	1 : 9 093 542

Wenn ein Teil der CO_2, namentlich zu Anfang des Versuches, auch aus dem Kalziumkarbonat stammt, so läfst sich aus dieser Übersicht doch erkennen, dafs trotz der starken Bakterienvermehrung zum Schlusse weniger CO_2 gebildet worden ist; denn auf 1 mg CO_2 kommt in den beiden letzten Perioden das Vielfache der Bakterienmenge in den beiden ersten. Die Bestimmung der Arbeitsleistung der fortzüchtungsfähigen Keime wie bei den vorhergehenden Versuchen stöfst insofern auf Schwierigkeiten, als die in Abzug zu bringende CO_2 Menge aus dem Kalziumkarbonat erst am Schlusse berechnet worden ist. Es wären zur Bildung von 1 mg CO_2 in den ersten 24 Stunden nur 4 479 578 und am 2. Tage 601 993 355 Keime nötig gewesen, also wesentlich kleinere Mengen als in Versuch VII, VIII und IX.

Auch die Häufigkeit der Keimteilung weicht bedeutend von derjenigen der oben genannten drei Versuche ab. In den ersten 24 Stunden fand eine 4,19malige Teilung statt, demnach brauchten die Keime für eine Teilung 5,25 Stunden. Es liegt bei diesem Versuch trotz der verhältnismäfsig grofsen Einsaat eine auffallende Verzögerung der Vermehrung vor. Man könnte daran denken, dafs die Ursache derselben in dem Marmorzusatze zu suchen wäre. Eine ähnliche Verzögerung kam zwar in Versuch IX bereits zur Beobachtung, doch war sie hier bei weitem nicht so erheblich. Möglich wäre es immerhin, dafs das harte kristallinische Kalziumkarbonat die gebildete Säure nicht schnell genug binden konnte und so eine Hemmung des Wachstums durch die Säure zustande gekommen wäre. Ich möchte aber nach dem Ausfall der andern Versuche doch bezweifeln, dafs diese Säurewirkung schon so frühzeitig zur Geltung kommen

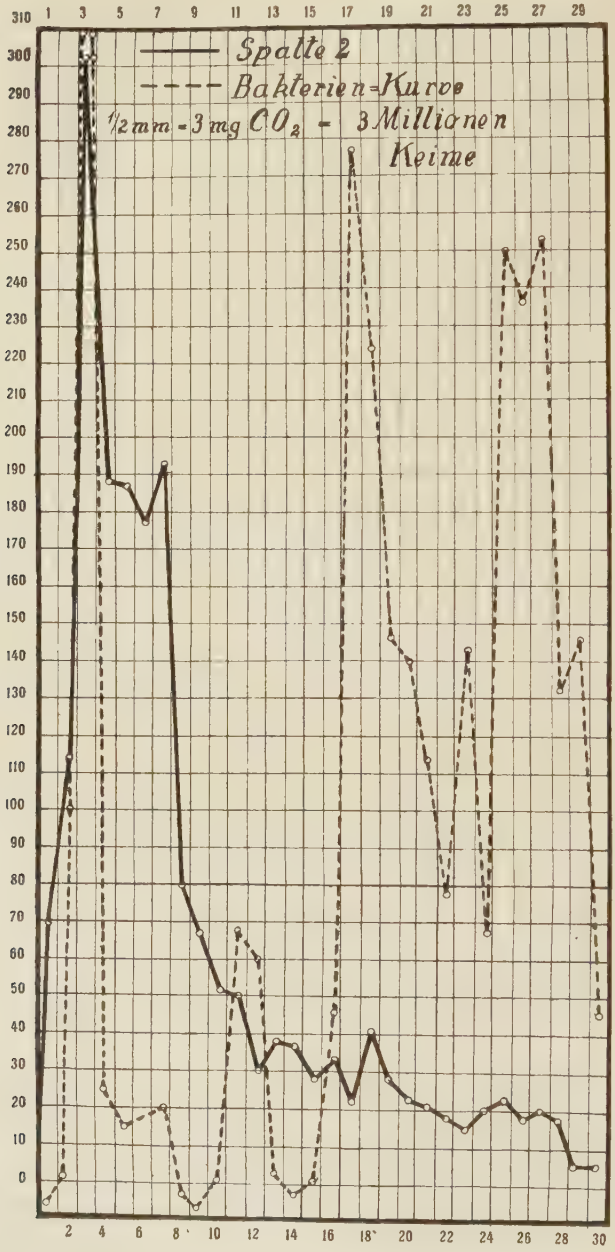

Fig. 11.

konnte. Nach meiner Ansicht müssen andere Umstände mitgewirkt haben, die ich jedoch nicht näher bestimmen kann.

Die Kalziumbestimmung am Schlusse des Versuches ergab für 100 ccm = 0,464 g CaO. Auf die Gesamtmenge des Nährbodens umgerechnet müfsten 2,4772 g CO_2 als aus dem Ca CO_3 stammend in Abzug gebracht werden.

Um die Bedeutung des Eiweifsgehaltes der Nährbouillon für das Wachstum und die Leistungsfähigkeit des Staphylokokkus festzustellen, habe ich der Vergleichung wegen noch einige Versuche mit einer eiweifsfreien Nährflüssigkeit, der Uschinskyschen Lösung, ausgeführt. Während dieser Nährboden einer ganzen Reihe selbst von pathogenen Mikroorganismen ein üppiges Wachstum gestattet, sagt er dem Staphylokokkus weniger zu. Es ist zwar eine Vermehrung der Kokken und auch eine CO_2-Produktion vorhanden, aber beide stehen doch in keinem Verhältnis zu den bei Verwendung von gewöhnlicher oder Traubenzuckerbouillon erzielten Resultaten.

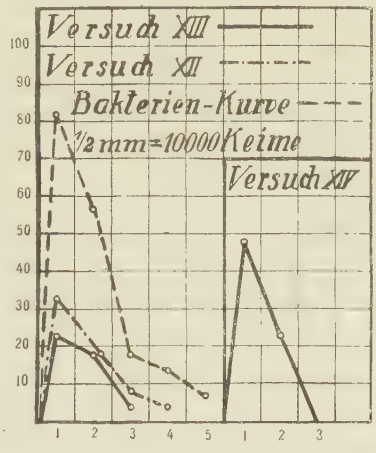

Fig. 12.

Versuch XII.

700 ccm Uschinskylösung von schwach alkalischer Reaktion.

Tage	Gemessene CO_2-Menge in ccm	24stündige CO_2-Menge nach der stündlichen Leistung berechnet in mg
1	30,8	33,12
2	17,6	18,93
3	8,8	8,45
4	4,4	4,73

Versuch XIII.

Dieselbe Nährlösung wie bei Versuch XII.

Tage	Gemessene CO_2-Menge in mg	24stündige CO_2-Menge nach der stündlichen Leistung berechnet in mg	Keimzahl im ccm Einsaat 3610
1	22,0	23,52	820 000
2	17,6	18,93	570 000
3	4,4	4,36	184 000
4	—	—	146 000
5	—	—	76 000
6	—	—	—

Versuch XIV.

700 ccm Uschinskylösung mit 1 proz. Traubenzuckerzusatz von schwach alkalischer Reaktion.

Tage	Gemessene CO_2-Menge in mg	24stündige CO_2-Menge nach der stündlichen Leistung berechnet in mg	Keimzahl im ccm Einsaat 3445
1	48,4	48,4	Infolge zu starker Verdünnung kein sicheres Ergebnis.
2	22,0	23,25	
3	0	0	

In der vorgelegten Schwefelsäure konnte gleichfalls kein flüchtiges NH_3 nachgewiesen werden. Die graphische Darstellung der Kurven dieser drei Versuche findet sich auf Figur 12. Für die Bakterienkurve bedeutet 1 mm der Figur = 10,000 Keime.

Dafs die Uschinskylösung kein guter Nährboden für den Staphylokokkus ist, prägt sich deutlich in den niedrigen Kohlensäurewerten und Keimzahlen aus. Im allgemeinen nähern sich beide Kurven bei allen drei Versuchen denen von VII VIII und IX. Auf den Anstieg im Beginn der Bakterienentwicklung folgt ein schneller und steiler Abfall ohne Schwankungen und am 3. bzw. 4. Tage hört die CO_2-Bildung bereits völlig auf. Etwas verbessernd scheint der Zuckerzusatz in Versuch XIV gewirkt zu haben. Die Kohlensäureproduktion weist etwas höhere

Werte auf. Doch sind diese so gering, dafs ihnen eine grofse Bedeutung wohl nicht beigemessen werden kann. Leider sind die Keimzählungen in diesem Versuche ausgefallen. In der Annahme, dafs der Traubenzucker ein üppiges Wachstum begünstigen würde, wandte ich stärkere Verdünnungen zur Herstellung der Gelatineplatten an als bei XII und XIII. Da die erwartete Vermehrung jedoch ausblieb, fielen die Keimzählungen negativ aus. In Versuch XIII ist am ersten Tage 1 mg CO_2 von 25345454 Millionen gebildet worden. Innerhalb dieser Zeit hatte eine 9,504malige Teilung stattgefunden, oder nach 2,52 Stunden wäre die Teilung jedes Individuums beendet gewesen.

Bei einem anderen Versuch, bei dem nur eine Keimzählung ausgeführt wurde, waren nach einer Einsaat von 1026 Keimen 225000 innerhalb 22 Stunden 30 Minuten im Kubikzentimeter zur Entwicklung gekommen. Diese Vermehrung entspricht einer 8,7 maligen Teilung und einer Beendigung jeder einzelnen in 2,56 Stunden.

Von einer Bestimmung der Gesamternte wurde wegen der geringen Bakterienentwicklung Abstand genommen.

Obgleich ich die Absicht hatte, bei den Versuchen mit Traubenzuckerzusatz gleichzeitig die Gröfse der Zuckerzersetzung zu bestimmen, um auch in dieser Beziehung einen Einblick in die Leistung der Bakterienmasse zu gewinnen, mufste ich jedoch zunächst wegen Zeitmangels davon Abstand nehmen. Bei zwei Versuchen habe ich dann die Bestimmung der Dextrosezersetzung ohne Berücksichtigung der Kohlensäureproduktion nachgeholt. Es wurde zu diesen Versuchen wie bei den anderen eine 2 proz. Traubenzuckerbouillon verwendet. Ich bediente mich dabei der von F. Allihn angegebenen Methode. Das ausgeschiedene Kupferoxydul wurde in den Allihnschen Röhren gesammelt, als Oxyd gewogen und nach den Weinschen Tabellen auf Traubenzucker umgerechnet.

Bei Versuch I waren in 100 ccm Nährboden 264 mg Dextrose in 22 Tagen zersetzt worden. Die nach der oben angegebenen Methode bestimmte Bakterienernte betrug 975 mg. Von 1 mg

Bakterien wären demnach 0,71 mg Dextrose in 22 Tagen zersetzt worden, an einem Tage = 0,0123 mg Dextrose.

Bei Versuch II betrug die Dextrosezersetzung für 100 ccm Nährboden 72,5 mg. Diese Arbeit war von 458 mg Bakterienmasse in 15 Tagen geleistet worden. Demnach hatte in dieser Zeit 1 mg Bakterienmasse 0,158 mg Dextrose zersetzt, oder in einem Tage = 0,01 mg Dextrose.

Obgleich es sich bei diesen Versuchen nur um die einfache Feststellung der Arbeitsleistung handelt, so glaubte ich doch, sie der Vollständigkeit halber erwähnen zu sollen.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

In den vorstehenden Versuchen ist die CO_2-Produktion als ein Mafsstab für den Stoffwechsel des Staphylococcus aureus gewählt worden, in der Absicht, durch die Bestimmung dieses Produktes nach Ablauf, Menge und Beziehung zur Bakterienmasse ein Bild von den Umsetzungsvorgängen im Leben dieses Mikrokokkus zu geben. Wenn man bei dem Stoffwechsel der Bakterien zwischen den Umsetzungen, die dem Aufbau der Bakterienleiber, dem Wachstum und der Erhaltung der Leibessubstanz, dem Umsatze dienen, zu unterscheiden hat, so ist die Kohlensäurebildung als ein Produkt der Oxydation in der Hauptsache wohl dem letzteren zuzuzählen und als ein Dissimilationsprodukt aufzufassen. Sie würde also eine Folge der Zersetzungen sein, welche nötig sind, um dem Organismus die nötige Lebensenergie zu verschaffen. Versteht man weiter unter Dissimilation im engeren Sinne den Vorgang, welchen wir als Atmung bezeichnen, so wäre die Kohlensäure als das typische Endprodukt der organischen Atmung aufzufassen. Es würden demnach die gefundenen CO_2-Kurven gewissermafsen als die Atmungskurven des Staphylococcus aureus anzusehen sein. Allerdings würde durch die Bestimmung der CO_2-Werte nicht die ganze Intensität der Atmung gemessen werden können, da alle die Atmungsvorgänge, welche unter unvollkommener Oxydation verlaufen, der Bestimmung entgehen. Immerhin mufs es als ein wesentlicher Fortschritt

betrachtet werden, wenn schon durch die Messung der Teilatmung, wie sie in diesen Versuchen ausgeführt worden ist, für die verschiedenen Bakterienarten charakteristische Atmungstypen aufgestellt werden können.

Bei einem derartigen Unternehmen, wenn namentlich auch die Umsetzungen der vorhandenen Nahrungsstoffe bestimmt werden sollen, darf die Schwierigkeit nicht übersehen werden, dafs es bis jetzt an einem einheitlichen geeigneten Nährboden fehlt, der einerseits allen zu untersuchenden Bakterienarten ein üppiges Wachstum gestattet und anderseits chemisch so einfach zusammengesetzte und bestimmbare Bestandteile enthält, dafs er jederzeit in derselben Beschaffenheit angefertigt werden kann. Will man trotzdem den Versuch machen, unter Zuhilfenahme eines bereits recht kompliziert zusammengesetzten Nährbodens, der Fleischwasserpeptonbouillon, dann dürfte stets mit den sich aus den Versuchen I, II und III ergebenen Erfahrungen zu rechnen sein, nämlich, dafs es

1. trotz gleicher Versuchsbedingungen nicht möglich ist, im einzelnen übereinstimmende CO_2-Kurven zu gewinnen. Der Grund für diese Erscheinung mag zum Teil in den Untersuchungsfehlern, die nicht auszuschalten sind, liegen, zum Teil aber auch, wie bereits schon ausgeführt ist, in der individuellen Verschiedenheit der einzelnen Zellen zu suchen sein, und dafs
2. eine leidliche Übereinstimmung der Kurvenformen erst dann zu erzielen ist, wenn ein besserer Ausgleich der Tagesdifferenzen durch Zusammenfassung in mehrtägige Gruppen (10 Tage) herbeigeführt wird. Dem abweichenden Verhalten der CO_2-Kurven von Versuch III ist aus dem vorher angeführten Grunde keine grofse Bedeutung zuzuschreiben.

Wenn es berechtigt ist, aus diesen wenigen Versuchen überhaupt eine allgemeine Schlufsfolgerung zu ziehen, dann würde der Atmungstypus des Staphylococcus aureus beim Wachstum in Nährbouillon sich so gestalten, dafs innerhalb der beiden

ersten Gruppen der Anstieg erfolgt und dann ein langsamer bis zum Schlufs anhaltender Abstieg einsetzt.

Aus Versuch VI—IX geht der Einflufs des Traubenzuckerzusatzes auf den Ablauf der CO_2-Bildung hervor. Der Atmungstypus wird in der Weise geändert, dafs auf den schnellen Anstieg in den ersten Tagen ein fast ebenso schnelles Absinken bis zum Aufhören der CO_2-Produktion um den 10. Tag herum folgt.

Die Ausnahme, welche Versuch VI macht, ist wahrscheinlich durch eine Sekundärinfektion im Laufe des Versuches zu erklären.

Versuch X und XI liefert den Beweis

1. dafs die Säurewirkung durch Zusatz von Kalziumkarbonat ausgeschaltet werden kann,
2. dafs aber trotzdem die CO_2-Kurve (Gruppenkurve) nicht derjenigen von I und II gleicht; die Hauptkohlensäurebildung fällt in die ersten Versuchstage, sie sinkt darauf zuerst verhältnismäfsig schnell ab, bleibt aber später längere Zeit unter ganz allmählichem Absinken verhältnismäfsig hoch. Es mufs dahingestellt bleiben, ob nicht diese Abweichung vom Typus der Versuche I und II lediglich durch die infolge der Säurebildung eingetretene Abspaltung von CO_2 aus dem Kalciumkarbonat bedingt ist.

Die Versuche mit Uschinskylösung ohne und mit Traubenzuckerzusatz ergeben nichts Charakteristisches in Bezug auf die CO_2-Bildung, zeigen aber, dafs diese eiweifsfreie Nährlösung den zu Anfang dieser Zusammenfassung skizzierten Anforderungen an einen geeigneten Nährboden nicht entspricht, da sie nur eine mangelhafte Bakterienentwicklung gestattet.

Die den Ablauf der Bakterienentwicklung darstellenden Kurven lassen erkennen,

1. dafs eine gewisse Periodizität in der Entwicklung zu bestehen scheint, dergestalt, dafs auf eine schnelle Vermehrung ein schneller Abfall der Keimzahl und nach einer kurzen Zeit des Tiefsandes eine neue Vermehrungs- und Rückgangsperiode einsetzt,

2. dafs in der ersten Bakterienentwicklungsperiode CO_2-Bildung und Keimzahl den Kurven nach scheinbar gleichlaufend sind, in der späteren aber keine der Bakterienvermehrung entsprechende Steigerung der CO_2-Bildung auftritt. Diese Erscheinung würde darauf hindeuten, dafs bei dem Aufbau der Leibessubstanz die Oxydationsvorgänge keine grofse Rolle spielen.

Was die bei den einzelnen Versuchen gefundenen Arbeitsleistungen in Bezug auf Kohlensäureproduktion und Eiweifszersetzung anbetrifft, so ist zu bemerken, dafs eine Trennung zwischen dem Teil, der auf das Wachstum und dem, der auf die Erhaltung der Leibessubstanz zu beziehen ist, bei dieser Form der Versuchsanordnung nicht durchführbar ist. Aber auch sonst wird eine derartige Scheidung der beiden Arbeitsgröfsen bei der praktischen Bestimmung auf grofse Schwierigkeiten stofsen, da die Feststellung des Zeitpunktes, an welchem das Wachstum aufhört und lediglich das Leben, d. h. die Erhaltung der Leibessubstanz anfängt, überhaupt nicht möglich ist. Man wird sich daher wohl bis auf weiteres mit der Bestimmung der Gesamtleistung begnügen müssen.

In den nachstehenden Übersichten sind die Hauptergebnisse der Versuche in diesem Sinne zusammengestellt.

I.

Nr. d. Versuchs	Verwendete Nährflüssigkeit	Dauer des Versuchs in Tgn.	Täglich gebildete CO_2-Menge in mg	Gesamt-CO_2-Menge in mg	Entsprechende Zersetzung der Albumosen in %	1 g Bakterienmasse nat täglich Kohlenstoff oxidiert in g	Gesamte gebildete NH_3-Menge	Entsprechende Menge des zersetzten Eiweifses in %	Bakterienernte in g
I.	700 ccm Peptonbouillon von schwach. alkal. Reaktion . .	74	80,885	5985,55	42,389	—	325,76	22,94	—
II.	Desgl.	74	90,778	6717,59	47,584	0,003	537,41	39,5	8,248
VI.	500 ccm 2 proz. Traubenzuckerbouillon, schw. alk. Reaktion .	33	84,077	2774,55	—	0,00378	—	—	6,031
X.	500 ccm 2 proz. Traubenzuckerbouillon, Zusatz von $CaCO_3$ schw. alk. Reakt.	55	110,062	6053,44	—	0,00489	—	—	6,119

II.

Nr. des Versuchs	Verwendete Flüssigket	Bakterienernte in g	1 mg CO_2 in den ersten 24 Stunden von wieviel Keimen gebildet?	Zahl der Teilungen in den ersten 24 Stunden	Teilungsdauer in den ersten 24 Stunden in Std.
III.	700 ccm Peptonbouillon .	—	3 069 800 000	17,13	1,4
IV.	700 ccm Peptonbouillon mit Gipszusatz . . .	—	1 125 500 000	15,37	1,56
V.	700 ccm Peptonbouillon mit Marmorzusatz . .	—	2 807 700 000	15,78	1,52
VII.	700 ccm Peptonbouillon mit 3 proz. Traubenzuckerzusatz	—	1 121 000 000	17,58	1,36
VIII.	700 ccm Peptonbouillon mit 2 proz. Traubenzuckerzusatz	—	1 173 000 000	21,48	1,11
IX.	700 ccm Peptonbouillon .	5,24	367 000 000[1]) 2. Tag: 1 217 000 000	11,81	2,03
XI.	700 ccm Peptonbouillon mit Marmorzusatz . .	—	4 479 578[2]) 2. Tag: 601 993 355	4,19	5,25
XIII.	700 ccm Uschinskylösung	—	25 345 453	8,81	2,55

Aus Übersicht I ergibt sich, dafs der Traubenzuckerzusatz nach Ausschaltung der Säurewirkung eine deutliche Steigerung der CO_2-Bildung hervorgerufen hat. Die durchschnittlichen Tagesleistungen sind höher als bei der gewöhnlichen Peptonbouillon. Diese Differenzen würden sich noch mehr zu Gunsten der Versuche VI und X verschieben, wenn I, II und X bis zum Aufhören der CO_2-Bildung fortgeführt wären.

Ferner zeigt Übersicht II, dafs auch in den Versuchen ohne Beseitigung der Säurewirkung der Traubenzuckerzusatz die CO_2-Leistung der Mikrokokken zu Anfang ihrer Entwicklung insofern günstig beeinflufst hat, als weniger Keime im Vergleich zu III, IV und V notwendig waren, um bei annähernd gleicher Teilungszahl und -dauer 1 mg CO_2 zu bilden.

1) Wachstumsverzögerung.

2) CO_2-Menge aus $CaCO_3$ nicht berücksichtigt.